

ZUR HISTOCHEMIE DER FREIEN UND MASKIERTEN LIPIDE

IN DER MENSCHLICHEN ZWISCHENWIRBELSCHEIBE

VON

PETER ALBERS

2

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554404_0001

ZUR HISTOCHEMIE DER FREIEN UND MASKIERTEN LIPIDE
IN DER MENSCHLICHEN ZWISCHENWIRBELSCHEIBE⁺

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

PETER ALBERS

aus Hamburg

MAINZ 1964

⁺ Diese Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die Herrn Dr. med. H. Schott (Pathologisches Institut der Universität Mainz) gewährt wurde, durchgeführt.

Dekan: Professor Dr. K. Thomsen
Referent: Professor Dr. H. Bredt
Tag der mündl. Prüfung: 11. Juni 1964



Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst, Mainz
Augustinerstraße 64-66

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Schrifttum über Lipide in strukturierter Interzellular- substanz	2
III. Schrifttum über Lipide im Hyalin- und Faserknorpel . .	3
IV. Material und Methodik	6
V. Ergebnisse	9
VI. Besprechung der Ergebnisse	14
VII. Zusammenfassung	20
VIII. Literatur	22

I. EINLEITUNG

Lipide sind im tierischen Organismus als Reserve- sowie Strukturstoffe vorhanden und dienen im Rahmen des Fettstoffwechsels nicht nur zur Energiegewinnung, sondern auch zum Strukturaufbau und -abbau. Da das Reservefett (Energie- bzw. Umsatzfett) keine Bindungen zu anderen Bauelementen der Zelle besitzt, läßt es sich gut histologisch nachweisen und leicht mit organischen Lösungsmitteln extrahieren. Dagegen sind Struktur lipide (Bau- bzw. Bestandsfett) sehr stark an andere Elemente gebunden, wodurch sie der histologischen Darstellung nur sehr schwer zugänglich gemacht werden können und auch bei üblichen histochemischen Lipid-Extraktionsverfahren nicht in ausreichendem Maße löslich sind. Diese Struktur fette sind im histologischen Schnitt als Lipoproteide, weniger als Glycolipide vorhanden. Aufgrund dieser Gegebenheiten unterscheidet man morphologisch "freie" (= Energiefett) sowie "gebundene" (= bound lipids, SERRA 1958) bzw. "maskierte" (= masked lipid, BERG 1951) Lipide.

Um die histochemische Darstellung der "maskierten" Lipide (Struktur fette) zu ermöglichen, ist eine Vorbehandlung der histologischen Schnitte notwendig, wodurch sie von ihren komplexen Bindungen teilweise oder vollständig getrennt werden. Man kann diese Trennung durch Hydratisierung, Wärmeeinwirkung, schwache Säuren, Einwirkung von Seifenlösungen, proteolytische Fermente oder durch Behandlung mit Salzlösungen verschiedener Molarität, um die löslichen Proteine und Nucleinsäuren zu eliminieren, erreichen.

Struktur fette sind im Körper ubiquitär vorhanden und wurden in den letzten drei Jahrzehnten nicht nur biochemisch-analytisch und physiologisch, sondern auch histochemisch und polarisationsoptisch nachgewiesen. - Ohne auf Vollständigkeit Wert zu legen, möchten wir summarisch das Vorkommen von gebundenen Lipiden in zellulären Strukturen erwähnen: Sie finden sich in den Zellkernen (STONEBURG 1939, DOUNCE 1943, WILLIAMS 1945, CHARGAFF 1949, CARVER und THOMAS 1952, WANG et al. 1952, SPIRO und McKIBBIN 1956), in Zell- und Erythrocytenmembranen (SCHMITT et al. 1936, 1938, WINKLER und BUGENBERG de JONG 1940, 1941, PONDER 1949, DANIELLI 1952, PREY-WYSSLING 1953, ENGSTRÖM und FINEAN 1958), sowie in Mikrosomen (BENSLEY 1943, HOLT-FRETER 1946) und Mitochondrien (BAKER 1942, CLAUDE 1944, 1948, GRAFFI und JUNKMANN 1946, BARNUM und HUSEBY 1948, ADA 1949, SWANSON und ARTOM 1950, ABOOD et al. 1952, GREEN 1963).

Der Fettgehalt normaler Lebern (Mensch, Hund und Ratte) ergibt bis zu 20% der Trockensubstanz (HARTMANN und FLECK 1952) sowie 3 - 6% des Frischgewichtes (SCHÖN et al. 1963), während die histologische Kontrolle einen negativen Fettnachweis erbrachte. Auch wurden Strukturlipide im Protoplasma des Achsenzylinders (McCOLL und ROSSITER 1950), in den isotropen und M-Scheiben der Skelettmuskulatur (DEMPSEY et al. 1946, BERG 1951), im Bürstenbesatz der Darmschleimhaut (HILLARP und OLIVECRONA 1946, OLIVECRONA und HILLARP 1949) beobachtet. Bemerkenswert ist der relativ hohe Fettgehalt des Nebennierenmarkes, der fast dem der Rinde entsprechen soll (LEULIER und REVOL 1930). W.J. SCHMIDT fand bereits 1935 (a und b) gerichtet eingelagerte Lipide in den Außengliedern der Sehzellen, in der Markscheide der Nerven 1936 und 1937 - diese Beobachtung konnte von SJÖSTRAND (1950, 1953) elektro-nenoptisch bestätigt werden - und 1939 solche in der Kernmembran.

In den letzten Jahren konnten biochemisch-analytisch sowie morphologisch gebundene Lipide in der strukturierten Interzellulärsubstanz, d.h. in den retikulären, kollagenen und elastischen Fasern, nachgewiesen werden. Durch den Hinweis angeregt, daß gebundene Fette orthologisch auch in der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels vorhanden sind (SCHOTT 1960, 1961, 1962 a), haben wir den Versuch unternommen, das Vorkommen und die Verteilung der freien und maskierten Lipide sowie ihre Bedeutung im Faserknorpel der menschlichen Zwischenwirbelscheibe zu untersuchen. Zum Verständnis unserer Problemstellung ist es notwendig, auf die bisher erhobenen biochemischen und morphologischen Befunde in nichtzellulären Strukturen im Hinblick auf ihren Lipidgehalt näher einzugehen.

II. SCHRIFTTUM ÜBER LIPIDE IN STRUKTURIERTER INTERZELLULARSUBSTANZ

Man nahm bisher an, daß die faserigen Strukturen aus einem Protein-Mucopolysaccharid-Komplex aufgebaut sind. Diese Ansicht muß aufgrund neuerer Erkenntnisse ergänzt bzw. revidiert werden.

Die biochemisch-analytischen Befunde von LITTLE und WINDRUM (1954) und WINDRUM et al. (1955) haben gezeigt, daß die Retikulinfaser einen Lipoidgehalt von 10,9% und als Baustein die Myristinsäure (N-Tetra-Decansäure) enthält. Im gereinigten Kollagen der Rinderhaut fanden BOWES und KENTEN (1948) etwa 0,1% Fett. Vor kurzem konnten KAO et al. (1960) detaillierte Angaben über die Lipidfraktionen in der

Kollagenfaser (Rattensehne) machen: 1,38 mg freies Cholesterin, 1,46 mg Gesamtcholesterin, 4,35 mg Phospholipide und 18,55 mg Triglyceride (Angaben in mg/g Sehnengewebe, Mittelwerte). In elastischen Fasern hat LANSING (1951) durch seine Extraktionsversuche geringe Lipidmengen nachgewiesen, während LOOMEIJER (1961) im Elastin durch Hydrolyse eine polare organische Säure mit einer C_{12} -Kette ermittelte.

Polarisationsoptische und histochemische Ergebnisse ergänzen diese Feststellungen. MISSMAHL (1957, 1958 a und b) fand in der retikulären Faser gerichtet eingelagerte Lipide (senkrecht zur Längsachse der Fibrillen liegend). Auch konnten NIESSING und ROLLHÄUSER (1954) im Grundhäutchen der Hirnkapillaren ein lamelläres Eiweiß-Lipidsystem nachweisen, in dem die Proteinkomponente als Träger- oder Gerüstsubstanz mengenmäßig überwiegt und in die die Lipoidmoleküle gerichtet eingelagert sind. Schließlich haben BERENBAUM (1954, 1958) und SCHOTT (1962 c) in allen drei Faserarten mit verschiedenen Sudanschwarz-B-Methoden Lipide nachgewiesen.

Nach diesen Untersuchungen muß man wohl zusammenfassend annehmen, daß sich die Fasern nicht nur aus Proteinen und Mucopolysacchariden zusammensetzen, sondern aus einem Lipoprotein-Mucopolysaccharid-Komplex bestehen.

III. SCHRIFTTUM ÜBER LIPIDE IM HYALIN- UND FASERKNORPEL

Im biochemischen Schrifttum sind analytische Angaben über den Fettgehalt bzw. bestimmte Lipidfraktionen im Hyalin- und Faserknorpel überaus spärlich. Lediglich über den Gehalt an Cholesterin und seiner Ester liegen ausführliche quantitative Untersuchungen von der BÜRGERschen Schule im menschlichen Rippenknorpel und in der Zwischenwirbelscheibe des Menschen in allen Dezennien vor.

So beträgt der Mittelwert an Gesamtcholesterin, bezogen auf die Trockensubstanz, im Rippenknorpel nach BÜRGER (1960) 232,4 mg/100 g (1. Dezennium 34 mg/100 g, 6. Dezennium 314 mg/100 g). Analoge Ergebnisse fanden G. und H. HEVELKE (1960) im Discus intervertebralis, einen Mittelwert von 176,3 mg/100 g Trockengewicht (1. Dezennium 64 mg/100 g, 9. Dezennium 364,9 mg/100 g).

Das Vorkommen von Lipiden im Hyalinknorpel ist histologisch schon relativ frühzeitig nachgewiesen worden.

So haben intrazelluläre, also freie, Fette bei Nagetieren zuerst v. LEYDIG (1854), beim erwachsenen Menschen TOLIDT (1877), ZAHN (1873) und ZACCARINI (1910), sowie im menschlichen fetalen Knorpel ASCHOFF (1897) und SACERDOTTI (1900) beschrieben. In der Folgezeit haben WLASSICS (1930) und PUTSCHAR (1931) gezielt die intrazellulären Lipide im hyalinen Knorpel unter normalen und pathologischen Verhältnissen untersucht, während SCHALLOCK (1942) die Lipide im Rahmen der Degenerationserscheinungen am Knorpel des Kniegelenks erwähnt. Alle genannten Autoren verwandten fast ausschließlich die Sudan-III-Methoden, womit sie freie Fette nachwiesen. In neuerer Zeit hat neben FOLLIS und BERTHRONG (1943, 1949, 1951) und FOLLIS (1949), die intrazellulär Neutralfette fanden, MONTAGNA (1949) mit der Nilblau-Methode Neutralfette und Fettsäuren sowie mit dem sauren Hämateintest nach BAKER Phospholipide zur Darstellung gebracht. Mit der Sudanschwarz-B-Methode (Fettstandard-Methode) hat er darüber hinaus an den 10 Sektionsfällen intrazelluläre Fette sowie vereinzelt eine schwache Anfärbung der Knorpelkapsel und ihrer Umgebung beobachtet, hat letztere Befunde jedoch nicht interpretiert. Schließlich erwähnt BERENBAUM (1953) im Rahmen seiner Testung verschiedene Gewebe mit eigenen Sudanschwarz-B-Methoden, daß maskierte Lipide auch in der Knorpelgrundsubstanz zu finden sind. Eine Fraktion der extrazellulären Lipide, nämlich das Cholesterin, hat SCHULTZ (1925) im hyalinen Knorpel mit der von ihm entwickelten Methode nachgewiesen.

An einem Sektionsgut jeder Altersstufe (30 Fälle) hat SCHOTT (1960, 1961, 1962 a und c) in systematischen Untersuchungen das Vorkommen und die Verteilung freier und gebundener Lipide am menschlichen Rippenknorpel untersucht. Neben den Fettstandard-Methoden mit verschiedenen Sudanfarbstoffen (Sudan III, Sudan IV, Sudanrot VIIb und Sudanschwarz B) zur Darstellung freier intrazellulärer Fette verwandte er zahlreiche Spezialfettfärbemethoden mit dem Sudanschwarz B zur summarischen Sichtbarmachung maskierter Lipide. SCHOTT hat nicht nur mit den letztgenannten Sudanschwarz-B-Verfahren sowie mit der Benzypren-Coffein-Methode nach BERG (1951) maskierte Lipide in der Knorpelkapsel und dem basophilen Knorpelhof nachweisen können, sondern auch am gleichen Ort bestimmte Fettfraktionen, so Cholesterin und seine Ester (Methode nach SCHULTZ bzw. ROMIEU), Esterphosphatide (saurer Hämateintest nach BAKER sowie Nilblau-Methode nach MENSCHIK) sowie cholin- und cholinphosphorsäurehaltige Lipide (Phosphormolybdänsäure-Methode nach LANDING und Luxol Fast blue nach KLÜVER

und BARRERA). Mit der Nilblau-Methode nach CAIN wurden in zentralen Abschnitten des Rippenknorpels rote Höfe beobachtet und als fettspezifisch angesehen (Neutralfette), während die intensive Blaufärbung derselben ("saure Lipide") hinsichtlich der Spezifität in Frage gestellt wurde. In allen genannten Methoden wurden auch intrazelluläre, also freie, Lipide gesehen. Nach SCHOTT (1961) soll diesen "maskierten Lipoidhöfen" in erster Linie eine orthologische Bedeutung zukommen.

Im Faserknorpel findet man überaus spärliche Angaben über den histologischen Fettnachweis. In Knorpelzellen der gesamten Zwischenwirbelscheibe sowie am Rande der Erweichungshöhlen des Nucleus pulposus erwähnt GÜNTZ (1941) beiläufig eine sudan-III-positive Anfärbung. ROTTER (1949) fand im Anulus fibrosus bzw. lamellosus älterer Menschen mit der Sudan-III-Methode (Fettstandard-Methode) eine zunehmende, umschrieben-diffuse Verfettung. In drei Arbeiten hat MALINSKY über die Zwischenwirbelscheibe beim Menschen und bei verschiedenen Tierarten histochemische Untersuchungen durchgeführt, wobei diese im Hinblick auf das Vorkommen und die Verteilung der Lipide in unserem Zusammenhang nur bedingt verwertbare Resultate bringen.

In den beiden ersten Publikationen verwendet MALINSKY (1955/56, 1958) das Sudanschwarz B (offenbar Fettstandard-Methode) und die PFAS-Reaktion (Perjod-Ameisensäure-Schiff-Reaktion nach LILLIE) zur Differenzierung von "Glyco- und Phospholipiden"(!). Bei 16 menschlichen Fetten von 36 - 150 mm Länge findet er positive Resultate im Cytoplasma der Chordazellen sowie in den Knorpelzellen der perichordalen und oberflächlichen Zone des Anulus fibrosus. In den menschlichen Zwischenwirbelscheiben von 24 Fällen (Neugeborenen - 77 Jahre alt) weist MALINSKY (1958) in den Chordazellen von Neugeborenen sowie in den Knorpelzellen von Individuen vom 2. - 77. Lebensjahr zwar Fettsubstanzen ("Glycolipide und Lipoproteine") nach, gibt aber kein näheres Verteilungsmuster an. Hervorheben möchten wir, daß er insbesondere im Nucleus pulposus älterer Menschen keine Lipide erkennen konnte. In seiner ausführlichen Arbeit von 1959, wo lediglich verschiedene Tierarten entsprechend unterschiedlicher phylogenetischer Gruppen untersucht wurden, werden zwar zahlreiche Lipidnachweise angeführt (Kolloidales Sudan III nach ROMEIS, Ölröt O Isopropanol-Methode nach LILLIE, Sudanschwarz B nach LISON, acetyliertes Sudanschwarz B nach CASSELMAN (1954), PHOSPHINE 3 R nach POPPER, Nilblausulfat nach L. SMITH, SMITH-DIETRICHs Methode mit Pyridin-Extraktions-Test, SCHULTZsche Methode und Digitonin-Cholesterin-Reaktion, PFAS-Methode nach LILLIE mit dem Bromin-Test

und FEYRTERSche Einschluß-Methode, Polarisationsmikroskopie ungefärbter Schnitte), diese jedoch nicht in den Ergebnissen detailliert wiedergegeben. "Glycolipide" und "Lipoproteine (Lipoidsubstanzen)" sowie "Neutralfette" findet MALINSKY mehrfach in Chordazellen sowie erstgenannte auch in den Membranen derselben, in den Knorpelzellen stellen sich lediglich "Neutralfette" bei einigen Spezies dar, die vorwiegend in den Spindelzellen des Anulus lamellosus vorhanden waren. Negative oder positive Resultate bei den spezifischen Cholesterinnachweis-Methoden (Cholesterin-Nachweis nach SCHULTZ und Digitonin-Methode) werden nicht erwähnt. Auch hier sind im Nucleus pulposus keine Lipide gesehen worden. Abschließend möchten wir unterstreichen, daß MALINSKY in allen drei zitierten Arbeiten niemals Lipide in der Grundsubstanz der gesamten Zwischenwirbelscheibe beobachtete.

IV. MATERIAL UND METHODIK

Material:

An einem unausgewählten Sektionsgut aller Altersklassen von insgesamt 20 Fällen wurden die Zwischenwirbelscheiben der Lendenwirbelsäule 6 - 24 Stunden nach dem Tode entnommen und für alle Färbe-Methoden - außer dem Cholesterin-Nachweis - in Formalin-Calcium nach BAKER (1945, 1946, 1947) fixiert. Die gesamten Disci intervertebrales wurden jeweils in acht keilförmige Sektoren zerschnitten, so daß in der Keilspitze stets Anteile des Nucleus pulposus vorhanden waren. Darüber hinaus haben wir jedes Stück nochmals horizontal geteilt, um reichlich Material nicht nur für die einzelnen Färbungsmodi, sondern auch zahlreiche Schnittebenen für die einzelnen Sektoren zu haben. Diese Art der Aufgliederung ist - wie es sich im Verlaufe der Untersuchung gezeigt hat - notwendig geworden, um einen Einblick in die unterschiedliche Verteilung der lipidpositiven Strukturen innerhalb der gesamten Zwischenwirbelscheibe zu gewinnen. Vom gesamten Material wurden Gefrierschnitte von 15 μ Dicke angefertigt.

Färbungen:

A. Sudanschwarz B⁺-(SSB-)Methoden:

I. SSB-Methode nach LISON (1934) = Fettstandard Methode zum Nachweis freier Lipide

⁺ Sämtliche Untersuchungen wurden mit dem Sudanschwarz B der Fa. Merck, Darmstadt, durchgeführt.

Hierbei wurde jedoch statt Äthylalkohol 70%-iger Isopropylalkohol als Lösungsmittel verwandt (0,1%-ige SSB-Lösung). Diese Methode wurde bei verschiedenen Temperaturen, unterschiedlichen Färbezeiten und mit einer zusätzlichen sauren Hydrolyse nach SCHOTT (1962 c) durchgeführt. Es ergeben sich hierbei folgende Modifikationen:

1. SSB bei Zimmertemperatur mit und ohne saure Hydrolyse.
2. SSB bei 60 Grad C mit und ohne saure Hydrolyse.
3. Bei einem Teil der Präparate in Anlehnung an BERENBAUM (1953) progressive Färbung bis zu 24 Stunden.

II. Kolloidale SSB-Methode nach SCHOTT (1962 c) zum Nachweis freier und gebundener Lipide mit entsprechenden unter I. angeführten Modifikationen.

III. SSB-Methode nach BERENBAUM (1953) mit den drei angegebenen Methoden ("BERENBAUM A, B, C") zum Nachweis gebundener Lipide:

1. BERENBAUM A:

- a) Fixierung in neutralem Formalin-Calcium.
- b) 2 - 48 Std. fließend wässern.
- c) Spülen in konzentriertem Aceton.
- d) Färbung in einer gesättigten (ungefähr 2%-igen) Lösung von SSB in Aceton bei Zimmertemperatur,
37 Grad C,
60 Grad C.

Die Färbung ist progressiv, 1-48 Std., allgemein 4 Std.

- e) Farbwolken in Xylol restlos ausspülen - in Caedax eindecken.

2. BERENBAUM B ("sudanblack B burnt"):

- a) Fixierung in neutralem Formalin-Calcium.
- b) 24 Std. Schnitte in Wasser bei 60 Grad C.
- c) Kurz in 70%-igem Isopropylalkohol spülen.
- d) Kalt gesättigte Lösung von SSB in 70%-igem Isopropylalkohol, frisch filtriert.
- e) Schnitt auf horizontaler Färbebank mit obiger Lösung überdecken und abbrennen. Farbreste abgießen. 6 - 12 x abbrennen, Präparat darf inzwischen nicht austrocknen.
- f) Farbwolken in 96%-igem Isopropylalkohol ausspülen.
- g) Xylol - in Caedax eindecken.

3. BERENBAUM C:

- a) Fixierung in neutralem Formalin-Calcium.
- b) Für 24 Std. in Wasser bei 60 Grad C.

- c) Kurz in 70%-igem Isopropylalkohol spülen.
- d) Färbung in 70%-iger kalt gesättigter SSB-Isopropylalkohol-Lösung bei 60 Grad C (progressiv 4 Std., Parallelschnitt zur Kontrolle bei Zimmertemperatur).
- e) Kurz in 70%-igem Isopropylalkohol spülen.
- f) Xylol - in Caedax eindecken.

IV. SSB-Gelatine-Essigsäure-Methode nach GOVAN (1944) bzw. FREDRICKSON (1953) zum summarischen Nachweis von Lipiden.

B. Cholesterin- und Cholesterinester-Nachweis nach SCHULTZ (1924/25, 1925, SCHULTZ und LÖHR 1925) in der verbesserten Modifikation nach WEBER et al. (1956). Vergleichende methodische Angaben finden sich bei LIPP (1960).

C. Luxol Fast blue-Methode (Methasol Fast blue) nach KLÜVER und BARRERA (1953, 1954) sowie PEARSE (1955) zum Nachweis cholinphosphorsäurehaltiger Lipide.

D. Nilblausulfat-Methode nach CAIN (1947) zum Nachweis von "neutralen" (rotes Oxazon-Derivat = Nilrot und rote freie Oxazinbase des Nilblau) und "sauren" (blaues Salz des Nilblau-Oxazins) Lipiden.

E. Zur Ergänzung der Lipidnachweise wurden folgende zusätzliche Färbungen durchgeführt: Hämatoxylin-Eosin, van Gieson, Resorcin-Fuchsin, Toluidinblau, PAS (GRAUMANN 1954), Alcianblau (PEARSE 1960), Astrablau (PIOCH 1957).

Extraktionen:

Chloroform-Methanol-Extraktionen im Schnittpräparat bei 60 Grad C für 24 Std. wurden zur Kontrolle bei den beschriebenen Sudanschwarz-B-Methoden (außer A.IV.), beim Luxol Fast blue sowie beim Cholesterin-Nachweis durchgeführt.

V. ERGEBNISSE

1.) Sudanschwarz-B-Methoden

Der besseren Übersicht halber ist es unumgänglich, die in den einzelnen Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe vorhandenen, verschieden strukturierten zellulären und nichtzellulären Bestandteile gemäß der tabellarischen Gliederung (Tab.I) gesondert zu erörtern. Wir haben in den einzelnen, schon makroskopisch sichtbar sich unterscheidenden Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe von peripher nach zentral (schmale Regenerationszone, mittelbreiter Anulus fibrosus, relativ breiter Anulus lamellosus mit unschartem Übergang in den Nucleus pulposus) nicht nur verschiedene Zelltypen gemäß ihrem Alter, sondern auch jeweils eine sehr unterschiedliche faserige bzw. fibrilläre und unstrukturierte Interzellulärsubstanz. Weiterhin möchten wir hier ein besonderes Augenmerk gemäß dem verschiedenen Aussagewert der einzelnen Sudanschwarz-B-Methoden auf die freien, zumeist intrazellulär gelegenen und auf die maskierten (gebundenen) Lipide, die fast ausschließlich extrazellulär lokalisiert sind, legen.

Die detaillierten Ergebnisse in den Tabellen I - III stellen jeweils Mittelwerte von insgesamt 723 Präparaten der 20 Fälle dar. Schon mit der Sudanschwarz-B-(SSB-)Standard-Methode (Tab.I, Färbung 1a) bei üblicher Färbezeit kann man sudan-positive Tröpfchen im Cytoplasma sämtlicher Zelltypen erkennen, wobei eine deutliche Zunahme nach dem Zentrum zu vorhanden ist, nicht aber mit zunehmendem Alter. Wird diese Färbung bei 60 Grad C durchgeführt (Tab.I, Färbung 3), so läßt sich diese Feststellung noch deutlicher demonstrieren. Während die Färbungen 1 und 3 fast ausschließlich den Nachweis freier Lipide zeigen, geben die in Tab.I angeführten übrigen SSB-Methoden einen Aufschluß über die freien und maskierten Fette. Auch hier erkennt man eine deutlichere Anfärbbarkeit des tropfigen intrazellulären Fettes in den mehr zentral gelegenen Zelltypen der Zwischenwirbelscheibe. Die intrazellulären Lipide werden zumeist grau bis schwarz angefärbt, jedoch treten bei den SSB-Spezial-Methoden auch blaue und braune Farbnuancen auf, wobei auf letztere später eingegangen werden soll. Die Anfärbbarkeit der Kerne leitet uns schon zur Darstellung der gebundenen (maskierten) Lipide über. Während die Fettstandard-Methode einschließlich ihrer Variante mit progressiven Färbezeiten (Färbung 1a und 1b) nur die Kernmembran hellgrau bis grau anfärbt, wird diese mit den übrigen SSB-Methoden deutlich grau bzw. braun, mit einigen auch der ganze Kern hellbraun dargestellt. Sehr aufschlußreich sind die Befunde an der der Interzellulärsubstanz zuge-

hörigen Knorpelkapsel und dem basophilen Knorpelhof. Hier erkennt man mit der Fettstandard-Methode (Färbung 1a) bei Zimmertemperatur nur eine gelegentliche Anfärbung der Knorpelkapsel, bei 60 Grad C jedoch eine erhebliche Anfärbung bei sämtlichen Zelltypen. Die SSB-Spezial-Methoden lassen durchweg eine kräftige Anfärbung der Knorpelkapsel erkennen, allerdings teilweise mit unterschiedlicher Farbe (Abb. 3).

Der basophile Knorpelhof läßt eine Anfärbung mit der SSB-Standard-Methode (Tab. I und II, Färbung 1a) vermissen, während bei der progressiven Färbung (Tab. I und II, Färbung 1b) bzw. bei 60 Grad C (Tab. I und II, Färbung 3) eine geringe Anfärbung zu erkennen ist. Alle anderen SSB-Methoden zur Darstellung maskierter Lipide zeigen mit aller Deutlichkeit eine sehr gute Anfärbbarkeit der Höfe mit unterschiedlicher Intensität und Farbe (Tab. I und II - Abb. 2 und 3). Entsprechend den Entwicklungsstadien der Knorpelzellen lassen die lanzettförmigen Zelltypen in der Regenerationszone, im Anulus fibrosus und z. T. auch im Anulus lamellosus - wie auch bei Farbe-Methoden mit basischen Farbstoffen - eine Anfärbung der Zellhöfe vermissen (Abb. 2). Den basophilen Höfen begegnen wir besonders im Anulus lamellosus sowie im Nucleus pulposus bei den rundovalen bzw. runden Zelltypen (Abb. 3), wo auch die Höfe der regenerativen Knorpelzellnester sich gut darstellen. Das Auftreten der Knorpelzellnester (einige Autoren nennen diese auch "Riesenzellen") konnten wir schon vom 12. Lebensjahr an feststellen. In der gesamten postnatalen Periode nehmen bis ins hohe Alter die rundovalen bzw. runden Knorpelzellen und damit auch die sudanophilen Höfe kontinuierlich zu; gleichzeitig sieht man in gleicher Abhängigkeit eine intensivere Anfärbung der Höfe bei fast allen SSB-Spezial-Methoden.

Tab. III gibt Aufschluß über die Anfärbbarkeit der Fasern bzw. Fibrillen in den einzelnen Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe: Auch hier zeigt die Fettstandard-Methode kaum eine Anfärbung, während die Spezial-Verfahren die Faserelemente in verschiedener Farbnuancierung zumeist entlang ihrem Verlauf, teilweise aber auch herd- bzw. streifenförmig gut zur Darstellung bringen. Wir möchten hervorheben, daß eine Anfärbbarkeit der Fasern in der kindlichen und jugendlichen Zwischenwirbelscheibe auch mit Spezial-Fettfärbemethoden kaum zu erreichen ist, während diese mit zunehmendem Alter bei allen Methoden sehr deutlich wird. Letztere Feststellung ist aus Tab. III nicht ersichtlich, da bei dieser nur die Mittelwerte berücksichtigt worden sind.

Die gallertige Interfibrillarsubstanz im Nucleus pulposus bzw. die homogene Grundsubstanz im Anulus lamellosus färbt sich mit der Fettstandard-Methode bei Individuen bis zum 25. Lebensjahr nicht an, während man bei gleichen Altersstufen bei 60 Grad C (Fettstandard Methode, Tab. III,

1	a	=	SSB-70%-Isopropylalkohol (Fettstandardmethode), 1 Std.	-	=	ungefärbt			
1	b	=	"	,24	"	+	=	hellgrau	
2	a	=	"	+ saure Hydrolyse	,1	"	++	=	grau
2	b	=	"	"	,24	"	x	=	hellblau
3	=	"	60 Grad C.				xx	=	blau
4	=	"	"	+ saure Hydrolyse			o	=	hellbraun
5	=	SSB-Kolloidal					oo	=	braun
6	=	"	+ saure Hydrolyse				++;xx;o	=	positiv in allen Fällen
7	=	"	60 Grad C.				+;x;o	=	"
8	=	"	"	+ saure Hydrolyse			-/+;-x;-o	=	50 % der Fälle positiv
9	=	BERENBAUM A	- Zimmertemperatur				(+);(x);(o)	=	25 - 50 "
10	=	"	- 37 Grad C.				((+))	=	bis 25 % "
11	=	"	- 60 "						
11	=	BERENBAUM B							
12	=	BERENBAUM B							
13	=	BERENBAUM C							

Kern

K = Karyoplasma
M = Kernmembran

Tab. I. Anfärbung der einzelnen Zelltypen, der Knorpelkapseln sowie der basophilen Höfe der menschlichen Zwischenwirbelscheibe mit verschiedenen Sudanschwarz B-(SSB-)Methoden; x) = Knorpelzellnester

Lebens- alter in Jahren	SSB- Färbung	1a	1b	2a	2b	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	1-10	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-
	11-20	-	-	-	-	-	(+)	-	+	-	+	-	-	(+)	(+)	-
	21-30	-	-	-	+	-	+	(+)	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-
	31-40	-	-	-	+	-	+/++	(+)	+	(+)	++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	41-50	-	-	(+)	+	-	+/++	(+)	+	(+)	++	(+)	(+)	(+)	+	(+)
	51-60	-	(+)	+	+/++	(+)	++	+	++	+	++	+	(+)	+	+	(+)
	61-70	-	+	+	+	+	++	(+)	+	+	++	+	(+)	++	+	+
	71-80	-	(+)	+	+/++	(+)	++	+	++	(+)	++	+	(+)	+	+	(+)

1 a = SSB-70%-Isopropylalkohol (Fettstandardmethode), 1 Std.

2 a = " + saure Hydrolyse " , 1 "

2 b = " " , 24 "

3 = " 60 Grad C.

4 = " " + saure Hydrolyse
5 - SSR-Kolloid

5 = SSB-Kolloidal
6 = " "

Tab. II. Altersverteilung von Knorpelzellhöfen bei verschiedenen SSB-Färbungen. Hierbei sind die basophilen Knorpelzellnester mitberücksichtigt.

Sektor		1 a	1 b	2 a	2 b	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Regenerat.zone	Fasern	-	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+/o	+	+/o	+/o	+/o	+	+/o
Anulus fibrosus	Fasern	-	(+)	+	+	+	+	+	++/xx	+/o	+	+/o	+	+ /++	+	+ /oo
Anulus lamellosus	Fasern	-	+	+	++	++	++	+ /++	++/xx	++/oo	++ /+++	+ /oo	+ /oo	++ /oo	+ /++	+ /oo
	Degenerationsherde	+	+ /x	+ /++	++	++ /++	++	+ /++	++ /oo	++	++	+ /oo	+ /oo	+ /oo	++	++ /o
	Knorpelzellnester	+	+ /++	+ /++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++ /o
Nucleus pulposus	Fibrillen	- /+	+	+ /++	+ /++	+ /++	+ /++	+ /++	+	++ /oo	+ /++	+	+	+ /++	++	++ /oo
	Gallert. Interfibr. sub.	(+)	(+)	+	+ /++	+	+ /o	+	+	+ /oo	+	+ /o	+ /oo	++ /oo	+	+ /oo
	Degetropfig	+	+	+ /++	++	++	++ /oo	+ /++	++	++ /oo	++	+ /o	+ /oo	++ /oo	++	oo
	nera-scholl. bröckl.	+	+	+ /++	++	++	++ /oo	+ /++	++	++ /oo	++	+ /o	+ /oo	++ /oo	++	oo
	tio-Erweich. höhlen	+	+	+ /++	++	++	++ /+++	++	++ /+++	++	+++	++ /o	++ /oo	++	++	+ /oo
	Knorpelzellnester	+	+ /++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+ /oo

1 a =	SSB-70%-Isopropylalkohol (Fettstandardmethode), 1 Std.	-	=	ungefärbt
1 b =	"	+	=	hellgrau
2 a =	" + saure Hydrolyse	++	=	grau
2 b =	"	+++	=	schwarz
3 =	" 60 Grad C.	x	=	hellblau
4 =	" + saure Hydrolyse	xx	=	blau
5 =	SSB-Kolloidal	o	=	hellbraun
6 =	" + saure Hydrolyse	oo	=	braun
7 =	" 60 Grad C.	+++	=	positiv in allen Fällen
8 =	" + saure Hydrolyse	++;xx;oo	=	"
9 =	BERENBAUM A - Zimmertemperatur	+ ;x ;o	=	"
10 =	" - 37 Grad C. /	- /+	=	50 % der Fälle positiv
11 =	" - 60 " /	(+)	=	25 - 50 % "
	12 = BERENBAUM B			
	13 = BERENBAUM C			

Tab. III. Anfärbung von Faserstrukturen, Degenerationsherden, Knorpelzellnestern und der gallertigen Interfibrillarsubstanz der menschlichen Zwischenwirbelscheibe mit verschiedenen Sudanschwartz B-Methoden.

S. Nr.	Alter in Jahren	Anulus fibrosus		Anulus lamellosus		Nucleus pulposus				Präparate		
		Fasern	Zellhöfe	Fasern	Zellhöfe	Fibril	n	G.I.	Zellhöfe	Kzn.	S	+ -
456/62	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	0 30
758/62	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	0 22
110/63	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	0 21
803/62	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	0 24
95/63	37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	0 29
188/63	45	-	-	5	-	2	8	8	-	-	73	13 60
103/63	49	1	-	7	3	5	7	15	-	-	64	34 30
742/62	55	-	-	-	3	8	7	25	4	-	46	36 10
97/63	56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	0 23
192/63	56	-	-	-	-	-	-	1	-	-	23	1 22
564/63	59	-	-	10	3	10	13	28	4	-	75	41 34
715/62	61	-	-	4	-	2	7	6	2	-	47	18 29
774/62	69	-	-	4	2	4	5	10	2	-	40	21 19
560/63	73	-	-	8	6	12	17	32	3	-	70	58 12
183/63	77	-	-	2	3	5	2	7	1	-	35	14 24
Absolute Häufigkeit der Anfärbung		1	0	40	20	48	66	132	16	-	625	236 389
323 positive Resultate = 100 %		(1 %)	-	12 %	6 %	15 %	20 %	41 %	5 %	-		

G.I. = Gallertige Interfibrillarsubstanz mit Degenerationsherden

Kzn. = Knorpelzellnester

S. = Zahl der untersuchten Schritte

Tab. IV. Häufigkeit der histochemischen Darstellung von Cholesterin und seinen Estern mit der SCHULTZ/WEBER-schen Reaktion in den einzelnen Strukturen der Zwischenwirbelscheibe des Menschen.

Färbung 3) eine mäßige, mit den Spezial-Fettfärbe-Methoden eine gut sichtbare diffuse Anfärbung sehen kann. Mit zunehmendem Alter kann man bereits mit der Fettstandard-Methode deutlich die unterschiedlich aussehenden Degenerationsherde besonders im Nucleus pulposus, aber auch im Anulus lamellosus, erkennen; einmal finden sich unterschiedlich große, zumeist isoliert liegende Fetttropfen bzw. umschriebene, sich diffus anfärbende Areale, zum anderen in der Größe sehr variable, schollig-bröcklige sudan positive Massen (Abb.4). Auch in den Randbezirken der Erweichungshöhlen bzw. teilweise auch in ihnen selbst erkennt man tropfige bzw. schollig-bröcklige Bezirke, die sich deutlich anfärben. Verdämmerte Knorpelzellen im Nucleus pulposus sind ebenfalls sudan-positiv. Die Spezial-Fettfärbemethoden zeigen in den genannten Degenerationsherden keinen prinzipiellen, sondern nur einen graduellen Unterschied in der Anfärbbarkeit (Tab.III). Die tropfige und schollige Degeneration fanden wir regelmäßig schon vom 20. bis 25.Lebensjahr an, während die schollig-bröckeligen Herde sowie die Erweichungshöhlen häufig ab der zweiten Hälfte des vierten Dezenniums zu beobachten waren. Die Knorpelzellnester, die besonders im Nucleus pulposus lokalisiert sind, nehmen vom 12.Lebensjahr an kontinuierlich an Größe und Häufigkeit zu und liegen oft in der Nähe der Degenerationsherde.

Bei den oben beschriebenen SSB-Methoden haben wir zur Kontrolle eine 24-stündige Chloroform-Methanol-Extraktion bei 60 Grad C (Schnittpräparat) vorgeschaltet. Die freien intrazellulären Lipide und die Fette in den meisten Degenerationsherden sind nach der Fettextraktion nicht mehr darstellbar. Demgegenüber zeigen die maskierten Lipide in der Knorpelkapsel und in den Höfen, teilweise auch in einigen Degenerationsherden, nach der Extraktion mit den Spezial-Fettfärbe-Methoden zwar eine deutliche Abnahme in der Farbintensität, jedoch keinen vollständig negativen Ausfall. Auch ist die Anfärbung nach der Extraktion bei den einzelnen Spezial-Fettfärbe-Methoden unterschiedlich.

2. Cholesterin- und Cholesterinester-Nachweis nach SCHULTZ/WEBER

In Analogie zu den Ergebnissen der SSB-Methoden möchten wir den Cholesterin-Nachweis in den einzelnen Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe anhand der Tab. IV und der Abb.1 ergänzend besprechen.

Im Cytoplasma der lanzettförmigen Zellen der Regenerationszone, des Anulus fibrosus und lamellosus fiel der Cholesterin-Nachweis stets negativ aus. Die rundovalen bzw. runden Knorpelzellen sowie die Knorpelzellnester

des Anulus lamellosus und Nucleus pulposus zeigen intrazellulär ab dem 45. Lebensjahr in etwa einem Viertel der Fälle, die andernorts einen positiven Befund erbrachten, eine zarte diffuse bzw. kleintropfige blau-grüne Anfärbung, der Kern war immer negativ. Eine Differenzierung der Knorpelkapsel ist bei positiven Befunden nicht genau möglich gewesen; der sich blau-grün anfärbende Knorpelhof ging zumeist allmählich in das Cytoplasma über. Möglicherweise hat sich das Lichtbrechungsvermögen der Knorpelkapsel durch die konzentrierten chemischen Agentien (Eisessig + konzentrierte Schwefelsäure) geändert. In den rindovalen und runden Knorpelzellen sowie in den Knorpelzellnestern ließen sich die basophilen Knorpelhöfe (Abb. 5) sehr gut in Form einer tief-blau-grünen Farbe nachweisen, nicht jedoch bei den lanzettförmigen Zellen. Die Altersverteilung dieser positiven Höfe ist sehr aufschlußreich (Tab. IV). Bis zum vierten Dezennium konnte trotz mehrfacher Prüfungen und bei Durchmusterung zahlreicher Präparate nie eine Anfärbung bemerkt werden; erst ab dem fünften Dezennium erkennt man in den Höfen die für das Cholesterin typische blau-grüne Farbe mit z. T. unterschiedlicher Intensität in einem Präparat. Von insgesamt 499 Präparaten dieser Altersstufen zeigen etwa 50% ein positives Resultat. Wir möchten jedoch hervorheben, daß in zwei Fällen des sechsten Dezenniums nahezu alle Nachweise in den Knorpelhöfen negativ ausfielen (Tab. IV). Die relativ häufig anzutreffenden Knorpelzellnester zeigen nicht immer einen positiven Befund. Eine relative oder absolute Zunahme der cholesterin-positiven Höfe im Alter ist nicht nachweisbar, die möglicherweise bei der Vielzahl der angefertigten Präparate im Einzelfall statistisch zu erwarten gewesen wäre (Tab. IV). Beziehen wir den positiven Cholesterin-Nachweis aller Strukturen in der Zwischenwirbelscheibe prozentual auf den positiven Ausfall der Knorpelhöfe (323 absolut positive Resultate = 100%), so sind diese im Anulus lamellosus in 6%, im Nucleus pulposus in 46% vorhanden (Abb. 1).

Die Fasern bzw. Fibrillen ergaben in allen Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe ausschließlich herd- bzw. streifenförmige blau-grüne Anfärbungen (Abb. 6). Auch hier ist in den ersten vier Dezennien der Nachweis negativ, während in den folgenden Altersstufen die Häufigkeit der Anfärbung von peripher nach zentral zunimmt: Anulus fibrosus unter 1%, Anulus lamellosus 12% und Nucleus pulposus 15% (Tab. IV und Abb. 1). Eine eindeutige Zunahme im Alter in den einzelnen Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe ist nicht erkennbar.

Im Nucleus pulposus zeigt die gallertige Interfibrillarsubstanz niemals diffuse, sondern prinzipiell herdförmige Anfärbungen vom fünften De-

zennium an (Tab.IV). Diese Bezirke, die wir als Degenerationsherde ansehen möchten, haben folgende morphologische Charakteristika: Die Herde sind staubförmig blau-grün angefärbt oder lassen kleine, unterschiedlich große Tropfen erkennen und liegen unscharf begrenzt in einer offenbar unveränderten Interfibrillarsubstanz. Eine zweite Gruppe zeichnet sich dadurch aus, daß sie staub- bzw. tropfenförmig angefärbt in schollig-bröckligen Massen (Abb.7) vorliegt oder die Erweichungshöhlen in gleicher Weise begrenzt. Diese letztere Gruppe der Degenerationsherde konnten wir gehäuft besonders in den drei letzten Dezennien sehen (Tab.IV). Auch besteht eine deutliche Zunahme des Cholesterins in der Interfibrillarsubstanz des Nucleus pulposus (20%) gegenüber den anderen Abschnitten der Zwischenwirbelscheibe, die nur von der Cholesterin-Menge in den basophilen Höfen (46%) gleichenorts übertroffen wird (Tab.IV und Abb.1).

3. Luxol Fast blue- und Nilblau-Methode

Die Behandlung mit dem Phthalocyaninfarbstoff Luxol Fast blue ergibt in ca. 2/3 der Fälle aller Altersstufen einen positiven, d.h. dunkelblauen bis violetten, Befund in den Faserelementen des Anulus fibrosus und lamellösus - stets streifenförmig an umschriebenen Stellen - den Zellkernmembranen sowie - in der Farbtönung etwas geringer - im Zellkern selbst. Einen eindeutigen Nachweis von intrazellulär sich anfärbenden Substanzen konnten wir nicht erheben. Die basophilen Höfe im Anulus lamellosus und Nucleus pulposus einschließlich der Knorpelzellnester zeigten in allen Altersstufen, wenn auch weniger häufig, eine dunkelblaue bis violette Anfärbung. In der gallertigen Interfibrillarsubstanz traten in seltenen Fällen, außer in den beiden ersten Dezennien, umschriebene, kleine staubförmige und feinkörnige Bezirke auf. Ausgesprochene Degenerationsherde waren ausnahmslos negativ.

Bei der Nilblausulfat-Methode nach CAIN haben wir prinzipiell nur solche Präparate als positiv gewertet, bei denen in der 1%-igen und in der 1% + 0.02%-igen Nilblausulfatlösung gleiche Ergebnisse auftraten. Die für Neutralfette typische Rotfärbung sahen wir in den runden Knorpelzellen in seltenen Fällen intrazellulär, teilweise tropfenförmig innerhalb des Zellkernes bzw. als schwache, diffuse Kernbegrenzung. Eine rote Anfärbung der Knorpelhöfe haben wir nie festgestellt. In der morphologisch unveränderten Interfibrillarsubstanz des Nucleus pulposus fanden wir vom vierten Dezennium an mehrfach kleintropfige, rötliche Bezirke. Die schollig-bröckligen Degenerationsherde und die Erweichungshöhlen zeigten besonders im höheren Alter gemischttropfige rote Anfärbungen wie bei den schon genannten Methoden.

Eine intensive Blaufärbung durch das blaue Salz des Nilblau-Oxazins haben wir mit unterschiedlicher Intensität in fast allen Strukturen des Discus intervertebralis, insbesondere intrazellulär, in der Knorpelkapsel, in dem Knorpelhof und in den verschiedenen Degenerationsherden festgestellt. Sie konnten in allen Altersstufen bei gleichzeitiger Zunahme in den höheren Dezennien beobachtet werden.

VI. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Über das Vorkommen und die Bedeutung der histochemisch nachweisbaren Lipide in der Zwischenwirbelscheibe des Menschen liegen in der Literatur nur sehr spärliche Befunde vor. Diese Feststellung bezieht sich auf die freien, insbesondere aber auf die gebundenen (maskierten) Fette (vgl. Abschnitt III). In unserer Arbeit wollen wir die Bezeichnung Lipide als übergeordneten Begriff bzw. Sammelname aller natürlich vorkommenden Fette und fettähnlichen Substanzen verstanden wissen, d.h. aller verseifbaren und nichtverseifbaren Fette; er beinhaltet demnach auch den Begriff der Lipoide und Lipine.

Von den zahlreichen fettspezifischen Sudan-Farbstoffen wird in den letzten zwei Jahrzehnten besonders das Sudanschwarz B (SSB) zum Nachweis von Lipiden verwandt.

Dieser von LISON (1934) in die histologische Fett-Färbetechnik eingeführte Diazofarbstoff (Dimethylnaphthalinperidin-4-azo-(1-naphthyl)-4-azobenzol: BERMAN (1952), GURR (1958)) wird wegen seiner größeren Färbebreite gegenüber anderen Sudan-Farbstoffen sehr empfohlen, da er auch die feinsten Fetttröpfchen erfaßt. Diese Färbebreite kann durch verschiedene Lösungsmittel und -modifikationen zusätzlich verstärkt werden (LENNERT und WEITZEL (1952), LISON (1953), LENNERT (1954), HARMS (1957), PEARSE (1960) u. a.), so daß auch eine Differenzierung in freie und gebundene (maskierte) Lipide möglich ist (BERENBAUM (1954, 1953), FREDRICSSON (1953), FREDRICSSON et al. (1953), SCHOTT (1960, 1962 a und c), SINAPIUS (1961)).

Die von uns verwandten Methoden ermöglichen einmal eine summarische Darstellung der freien und maskierten Lipide (SSB) in der Zwischenwirbelscheibe, zum anderen können wir durch diese auch bestimmte Lipid-Fractionen, nämlich das Cholesterin und seine Ester (SCHULTZ/WEBER), die Neutralfette (Nilblausulfat) und die cholinphosphorsäurehaltigen Lipide (Luxol Fast blue) abgrenzen.

Die Ergebnisse, die wir durch diese Methoden erzielt haben, vermitteln uns einen guten Einblick in das Vorkommen und die Verteilung der freien und maskierten Lipide, die auch eine deutliche Altersabhängigkeit zeigen. Bei der summarischen Erfassung der intrazellulären Fette (freie Lipide) erkennt man in allen Zelltypen, d.h. in den lanzettförmigen der außen gelegenen Regenerationszone und im Anulus fibrosus sowie in den rundovalen und runden Zellen und den Knorpelzellnestern des Anulus lamellosus und Nucleus pulposus deutliche, unterschiedlich große Fetttropfchen (Tab.I). Die Menge der freien Lipide nimmt darüber hinaus in den Zellen von peripher nach zentral zu. Das Cholesterin und seine Ester sowie Neutralfette und cholinphosphorsäurehaltige Lipide konnten wir zwar gegenüber dem SSB in wesentlich geringerer Quantität tröpfchenförmig nachweisen, jedoch ist eine eindeutige Zunahme dieser Substanzen von peripher nach zentral nicht erkennbar. Neben den intrazellulären freien Fetten finden wir auch solche extrazellulär im Anulus lamellosus und Nucleus pulposus. Die schon im Hämatoxylin-Eosin-Schnitt erkennbaren Degenerationsherde in Form schollig-bröcklicher Massen oder am Rande von Erweichungshöhlen zeigen umschriebene und unterschiedlich große gemischttröpfige oder diffus verteilte Fettsubstanzen (Abb.4). In einer offenbar unveränderten Grundsubstanz sieht man darüber hinaus nur beim SSB umschriebene Fetttropfen oder diffus sich anfärbende Areale. Diese Befunde haben wir beim SSB, beim Nilblausulfat (nur rote Anfärbung berücksichtigt = Neutralfette) und beim Cholesterin-Nachweis erheben können.

Durch die uns zur Verfügung stehenden färberischen Lipid-Nachweise - wenn wir von der Fluoreszenz-Methode (speziell Benzpyren-Coffein-Methode nach BERG) und von den polarisationsoptischen Verfahren absehen - ist es uns an der Zwischenwirbelscheibe erstmals gelungen, einen Einblick in die maskierten Lipide zu gewinnen. Mit den speziellen SSB-Methoden kann man in allen Zelltypen (Tab.I) die Knorpelkapsel als erstes Produkt der Knorpelgrundsubstanz mit unterschiedlicher Intensität nachweisen. Allerdings möchten wir hervorheben, daß innerhalb eines Schnittes manche Kapseln nicht angefärbt werden. Auch färben sich die basophilen Höfe im Anulus lamellosus und Nucleus pulposus deutlich an (Tab.I und II, Abb.2 und 3), wobei sich, wie vergleichende Schnitte im Hämatoxylin-Eosin-Schnitt zeigen, offenbar die selten vorkommenden Höfe mit acidophilem Charakter mit dem SSB nicht anfärben. Gehäuft findet man die Höfe besonders eindrucksvoll in den Knorpelzellnestern (Tab.I und III). Sehr überzeugend sind auch die mit unterschiedlicher Intensität sich anfärbenden Cholesterin-Höfe (Tab.IV), während das Luxol Fast blue diese nur relativ selten zeigt.

Die speziellen SSB-Methoden bringen von einem bestimmten Alter an die Fasern und die gallertige Interfibrillarsubstanz zur Darstellung, während sich Cholesterin bzw. cholinphosphorsäurehaltige Lipide nur umschriebenen streifenförmig anfärben, wie man es auch beim SSB erkennen kann. Diese herdförmigen Fettablagerungen in den Fasern möchten wir bereits im Sinne einer Fettphanerose als degenerativ ansehen.

Das Auftreten von freien und gebundenen Lipiden hat eine deutliche Beziehung zum Alter des Individuums. Für die freien intrazellulären Fette ist jedoch charakteristisch (SSB-Nachweis), daß eine eindeutige Zunahme der Lipidtröpfchen mit zunehmendem Alter nicht vorhanden ist. Die maskierten Fette in der Knorpelkapsel, besonders aber im basophilen Knorpelhof, nehmen offenbar gemäß der Tab. II im Alter zu; diese Zunahme ist aber u. a. nicht dadurch bedingt, daß sich die Höfe mit SSB intensiver anfärben, sondern sie beruht auf einer zahlenmäßigen Vermehrung der rundovalen und runden Zellen mit ihren Höfen, besonders der Knorpelzellnester im höheren Alter. In einem Gesichtsfeld sieht man eben in höheren Dezennien mehr Knorpelzellen als in jugendlichen Zwischenwirbelscheiben. Wir würden meinen, daß neben dieser echten Zellvermehrung wegen des abnehmenden Flüssigkeitsgehaltes der Zwischenwirbelscheibe im Alter (PÜSCHEL (1930), LINDAHL (1943)) eine scheinbare Zunahme vorhanden ist. Mit zunehmendem Alter lassen sich herd- bzw. streifenförmig maskierte Lipide in den Fasern aller Zwischenwirbelscheibenabschnitte, besonders aber in den mehr zentral gelegenen, nachweisen, im kindlichen und jugendlichen Discus intervertebralis lassen sich gebundene Fette in Fasern dagegen nicht beobachten. Eine sehr deutliche Zunahme der freien und maskierten Lipide haben wir jedoch in den unterschiedlich gestalteten Degenerationsherden einschließlich sog. Erweichungshöhlen, die besonders im Nucleus pulposus, aber auch im Anulus lamellosus gelegen sind, gesehen.

Unseres Wissens ist der histochemische Nachweis von Cholesterin und seiner Ester in der Zwischenwirbelscheibe des Menschen bisher noch nicht geprüft worden. MALINSKY (1959) hat zwar bei verschiedenen Tierarten einschließlich der Säugetiere mit Ausnahme des Menschen an der Zwischenwirbelscheibe die SCHULTZsche Methode und die Digitonin-Reaktion angewandt, erwähnt aber weder in den Ergebnissen noch in seiner Diskussion den Ausfall der Reaktion; es ist wohl anzunehmen, daß diese negativ ausfiel. Wir konnten mit der SCHULTZ-WEBERSchen Reaktion nicht nur positive Resultate in den Degenerationsherden (Abb. 7) des Nucleus pulposus an umschriebenen Stellen, in den Fasern des Anulus lamellosus (Tab. IV, Abb. 6) sowie auch intrazellu-

lär feststellen, sondern auch solche in den basophilen Knorpelhöfen (Tab. IV, Abb. 1 und 5). Bei der Altersverteilung fällt jedoch auf (Tab. IV), daß man in der gesamten Zwischenwirbelscheibe grundsätzlich erst ab dem fünften Dezennium Cholesterin nachweisen kann. Diese Beobachtung spräche eigentlich für eine signifikante Altersabhängigkeit. Wir möchten dazu jedoch folgende Tatsachen hervorheben: 1. Anfangs haben wir von nur einem bzw. zwei Sektoren der Zwischenwirbelscheibe lediglich einige Schnitt untersucht, die zu-nächst in allen Zonen negativ ausfielen; erst bei der Aufarbeitung vieler Schnitten-ebenen des Discus intervertebralis (siehe Methodik!) konnten bei den einzelnen Fällen vom fünften Dezennium an in einem jeweils verschiedenen Prozentsatz positive Ergebnisse gesehen werden. Es kommt also vor, daß von 30 bis 70 Schnitten etwa 50 bis 70% - im Durchschnitt etwa 50% - negativ sein können (Tab. IV, absolute Zahl: von 499 Schnitten 263 negativ). Der negative Ausfall der Cholesterin-Reaktion bezieht sich nicht nur auf die Knorpelhöfe, sondern auch auf das Cholesterin anderer Lokalisation. 2. Weiterhin ist auf-fallend, daß bei zwei Fällen im sechsten Dezennium der Nachweis negativ ausfiel (Tab. IV). Bei einer signifikanten Altersabhängigkeit müßte hier die Reaktion in ca. 30 bis 50% positiv zu erwarten sein. 3. Eine Erklärung für den unterschiedlichen Ausfall der Reaktionen, insbesondere für das negative Ergebnis in den ersten vier Dezennien sehen wir in der geringen Empfindlich-keit der Methode. Während der positive Ausfall der Reaktion mit großer Si-cherheit Cholesterin und seine Ester aufzeigt (mit Ausnahme von Carotin, Vitamin A, Ergosterin, Linolsäure, gewisse Terpene, ungesättigte Gallen-säurederivate und Krötengift, die in der Zwischenwirbelscheibe wohl keine Rolle spielen), beweist ein negatives Ergebnis nicht unbedingt das Fehlen von Cholesterin und seinen Estern (SCHULTZ und LÖHR (1925), KENT (1952), REINER (1952), LEWIS und LOBBAN (1960)). Auch besteht durchaus die Mög-lichkeit, daß das Cholesterin in den Knorpelhöfen in den ersten Dezennien in einer geringeren Menge bzw. in einer besonderen Art der Maskierung vor-liegt und deshalb der Methode entgeht. Da im gleichen Alter keine nennens-werten Degenerationsherde vorhanden sind, ist hierbei mit einem positiven Ausfall der Reaktion auch nicht zu rechnen. 4. Unsere Ergebnisse und Deu-tungen hinsichtlich des Vorkommens und der Verteilung des Cholesterin er-fahren eine Unterstützung durch biochemisch-analytische Untersuchungen von G. und H. HEVELKE (1960): Die Zwischenwirbelscheibe des Menschen enthält im ersten Dezennium bereits 64,0 mg Cholesterin pro 100 g (bezo-gen auf Trockengewicht), in den folgenden Dezennien ist ein altersentspre-chender Anstieg zu sehen. In Ergänzung der ermittelten Cholesterin-Werte obengenannter Autoren sind wir der Meinung, daß das von ihnen in den er-

sten vier Dezennien nachgewiesene Cholesterin morphologisch, wenn von uns auch histochemisch nicht erfaßbar, hauptsächlich in den Knorpelhofen und intrazellulär lokalisiert ist.

Die von uns erhobenen Befunde hinsichtlich der freien und maskierten Lipide haben wir durch Extraktionsversuche bekräftigen können. Nach Vorbehandlung der Schnitte in organischen Lösungsmitteln ist Cholesterin in keiner der von uns beschriebenen Lokalisation mehr histochemisch nachweisbar. Die Spezifität der SCHULTZ/WEBERschen Reaktion an der Zwischenwirbelscheibe hat dadurch eine Unterstützung erfahren. Bei den verschiedenen SSB-Methoden liegen die Verhältnisse etwas anders: Während die freien Lipide (intrazelluläre, in den Degenerationsherden) nach der Extraktion nicht mehr darstellbar sind, zeigen die maskierten Fette (Kapsel, Höfe, Degenerationsherde) zwar eine deutliche Abnahme der Farbintensität, jedoch oft keine vollständig negative Reaktion. Es ist durchaus möglich, daß die Bindung der Lipide an Eiweiße in der erhaltenen histologischen Struktur so stark ist, daß die von uns durchgeführte Extraktionsmethode diese Bindung nicht zu lösen vermag. Diese Annahme wird durch BERENBAUM (1954, 1953) und SCHOTT (1961, 1962 c) noch unterstützt, wonach verschiedene Extraktionsmittel und verlängerte Extraktionszeiten ein vollständiges Herauslösen ermöglichen; die einzelnen Gewebsarten sollen sich dabei allerdings unterschiedlich verhalten. Bei den Spezial-SSB-Methoden besteht offenbar auch noch die Möglichkeit, daß am Ort der maskierten Fette nicht-lipidhaltige Substanzen angefärbt werden (SCHOTT (1962 c, 1963)). Bei der Spezifität wäre noch die Braunfärbung der Präparate hervorzuheben, die vornehmlich bei Färbungen mit höherer Temperatur auftritt (Tab. I und III).

SCHOTT (1962 c) hat darauf hingewiesen, daß u. a. die braune Farbkomponente sowohl Lipide als auch nicht-lipidhaltige Substanzen anfärben kann; eine gleiche Feststellung haben FREDRICSSON et al. (1953) getroffen, die in sauren SSB-Lösungen ein braunes Zerfallsprodukt isolieren konnten. Aus diesem Grunde haben wir nicht nur Methoden gemieden, die mit sauren alkoholischen Lösungen arbeiten, sondern auch alle anderen SSB-Lösungsmittel, deren pH unterhalb von 5 liegt (SCHOTT und SCHÖNER (1964)) nicht verwandt.

Dadurch, daß das Vorkommen und die Verteilung der freien und maskierten Lipide in der Zwischenwirbelscheibe eine ablesbare Gesetzmäßigkeit aufzeigen, sind wir der Meinung, diesen Substanzen im Stoffwechsel eine bestimmte Bedeutung beimessen zu müssen.

Zur Deutung unserer Befunde ist es notwendig, die Auffassung von SCHOTT (1961, 1962 a) im Hinblick auf den Lipidmetabolismus im hyalinen menschlichen Rippenknorpel zu erwähnen: Durch eine aktive Stoffwechsellarbeit der Zelle entstehen feindisperse Lipide in der Knorpelkapsel und im basophilen Knorpelhof, die teilweise an Proteine und Mucopolysaccharide gebunden werden, um weiter peripher in der Interterritorialsubstanz als Strukturlipid in die kollagene Faser eingebaut zu werden. Somit ist er der Meinung, daß den intrazellulären Fetten und den Lipidhöfen im hyalinen Knorpel, wo er - wie wir uns selbst überzeugen konnten - u.a. auch reichlich Cholesterin fand, eine orthologische Bedeutung zukommt und damit Ausdruck einer Reifung und funktionellen Struktur ist.

Aufgrund unserer Ergebnisse der summarischen Darstellung der Lipide (SSB-Verfahren) und der Lipid-Fraktion Cholesterin (SCHULTZ/WEBER) in der Zwischenwirbelscheibe glauben wir berechtigt annehmen zu können, daß sich diese Deutung auf den Fasernknorpel projizieren läßt. Mit der Reifung und Ausbildung der funktionellen Struktur beim Säugling und Kleinkind sehen wir im Discus intervertebralis noch keine Höfe, demzufolge auch keine Lipidhöfe (gleicher Befund bei SCHOTT (1961, 1962 a) im hyalinen Knorpel), während diese im Laufe der Reifung und damit Ausbildung der funktionellen Struktur deutlicher sichtbar werden. Die maskierten Lipide in den durch appositionelles und interstitielles (intussusceptionelles) Wachstum entstandenen Höfen möchten wir ausschließlich als orthologischen Stoffwechselfunktionszustand der durch aktive Zellarbeit entstandenen Interzellulärsubstanz auffassen, die auch im Alter keine wesentliche Zunahme erfahren. Eine überzeugende Vermehrung der intrazellulären Lipide ist - wie bereits erwähnt - mit steigenden Dezennien ebenfalls nicht vorhanden.

Wenn wir den intrazellulären und maskierten Lipiden eine orthologische Bedeutung ohne nennenswerte Zunahme im Alter beimessen, so steht diese Auffassung offenbar im Gegensatz zu den biochemisch-analytisch ermittelten Cholesterin-Werten von G. und H. HEVELKE (1960). Während die genannten Autoren das Cholesterin für die gesamte Zwischenwirbelscheibe angegeben haben, glauben wir im Hinblick auf das orthologische bzw. biomorphotische Vorkommen des Cholesterins in den einzelnen Abschnitten des Discus intervertebralis aufgrund der erhobenen morphologischen Befunde eine Aussage machen und dieses einem bestimmten Verteilungsmuster zuordnen zu können. Die eigentliche signifikante Vermehrung des Cholesterins vom 1. bis 9. Dezennium auf das 6-Fache beziehen wir nicht auf das orthologisch vorkommende Cholesterin intrazellulär und in den Knorpelhöfen, sondern auch die etwa

vom fünften Dezennium an regelmäßig auftretenden und in zunehmendem Alter sich vermehrenden Degenerationsherde und Knorpelzellnester mit ihren Lipidhöfen. Diese Ansicht stimmt auch mit der sprunghaften Zunahme des biochemisch-analytisch bestimmten Cholesterins vom fünften Dezennium an überein (1. Dezennium (= D.) 64,0 mg, 2. D. 76,2 mg, 3. D. 90,1 mg, 4. D. 93,5 mg, 5. D. 162,3 mg, 6. D. 193,4 mg, 7. D. 246,35 mg, 8. D. 295,5 mg, 9. D. 364,9 mg pro 100 g Trockengewicht, nach G. und H. HEVELKE). Nach dem Gesagten ist die Zunahme des Cholesterins bei dieser Lokalisation als biomorphotisches bzw. biomorphotisch-degeneratives Stoffwechselprodukt aufzufassen. Diese Vorstellungen beim Cholesterin - orthologischer Stoffwechselfunktionszustand intrazellulär und in den Höfen, biomorphotisches bzw. biomorphotisch-degeneratives Stoffwechselprodukt in den Degenerationsherden - möchten wir auch auf die summarische Darstellung der Lipide mit den SSB-Methoden und somit auf die Lipide schlechthin übertragen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

1. An einem unausgewählten Sektionsgut jeder Altersklasse wurden menschliche Zwischenwirbelscheiben der Lendenwirbelsäule histochemisch auf das Vorkommen und die Verteilung von freien und gebundenen Lipiden untersucht. Die angewandten Methoden ermöglichen eine summarische Darstellung der Lipide sowie bestimmter Lipid-Fractionen (Cholesterin und Cholesterin-Ester, Neutralfette, cholinphosphorsäurehaltige Lipide).
2. Die in einer unterschiedlichen funktionellen Struktur liegenden und somit verschieden gebauten Zelltypen der einzelnen Zwischenwirbelscheibenabschnitte zeigen auch histochemisch eine charakteristische Lipid-Anfärbung. Freie Lipide finden sich a) intrazellulär von peripher nach zentral zunehmend, etwa in gleicher Menge in jeder Altersstufe, b) in den unterschiedlich gestalteten und im Alter zunehmenden Degenerationsherden, besonders im Nucleus pulposus.
Maskierte Fette liegen a) bei ausgebildeter funktioneller Struktur in der Knorpelkapsel und im basophilen Knorpelhof vor, offenbar ohne Zunahme im Alter, b) in unterschiedlicher Menge in den Degenerationsherden bei deutlicher Altersabhängigkeit.
3. Unter den Lipid-Fractionen finden sich Neutralfette lediglich intrazellulär und in den Degenerationsherden, während cholinphosphorsäurehaltige Lipide vornehmlich in den Knorpelhöfen jeder Altersstufe zu sehen waren.

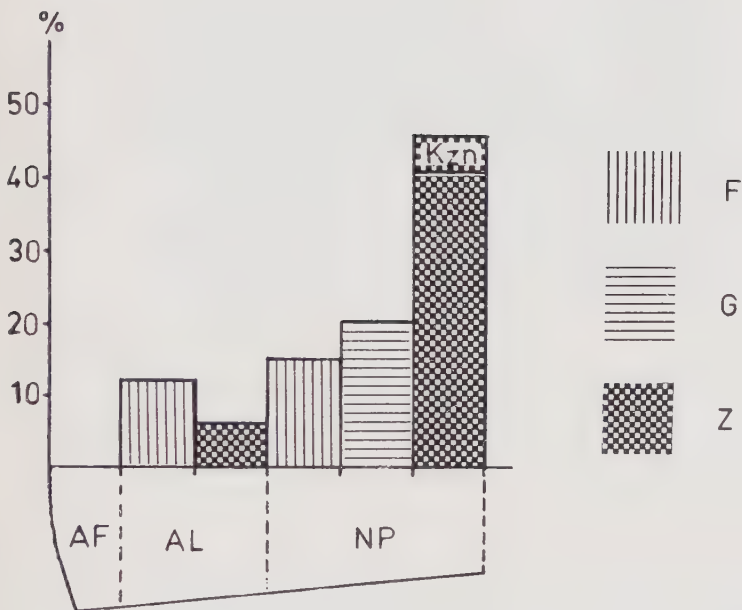


Abb. 1 : Häufigkeit der Anfärbung einzelner Strukturen der menschlichen Zwischenwirbelscheibe (vom 5. - 8. Dezennium) mit der SCHULTZ/WEBERschen Reaktion zum Nachweis von Cholesterin.
 AF = Anulus fibrosus
 AL = Anulus lamellosus
 NP = Nucleus pulposus

F = Fasern

G = Gallertige Interfibrillarsubstanz

Z = Zellen

Kzn = Knorpelzellnester

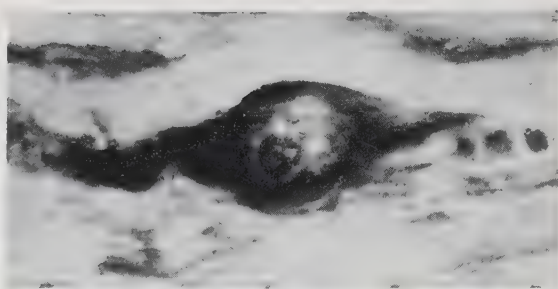


Abb. 2 : Intervertebralscheibe, Mensch. Rundovale Knorpelzelle des Anulus lamellosus, sudanpositive Darstellung des "basophilen Hofes" (links oben angeschnittene Zelle) und des Zellkernes. Färbung: Sudanschwarz B-Standardmethode mit saurer Hydrolyse. Vergrößerung: 500 x

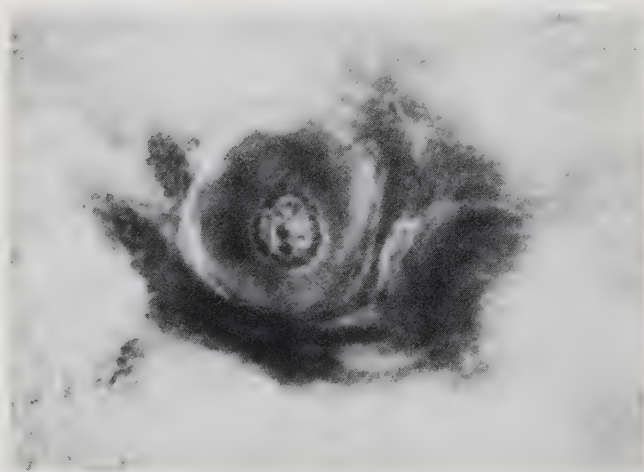


Abb. 3 : Zwischenwirbelscheibe, Mensch. Sudanpositive Anfärbung des "basophilen Knorpelhofes", der Kapsel, des Cytoplasmas und des Kernes einer runden Zelle des Anulus lamellosus. Färbung: Sudanschwarz B-Standardmethode mit saurer Hydrolyse. Vergrößerung: 1000 x

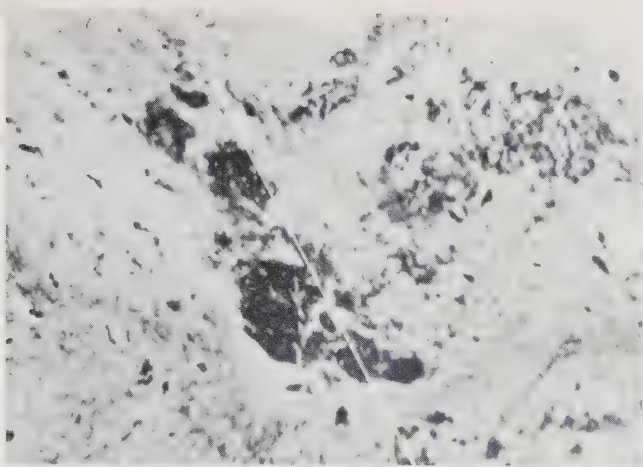


Abb. 4 : Zwischenwirbelscheibe, Mensch. Schellig-bröcklige sudanpositive Massen des Nucleus pulposus bei einem 55-jährigen Mann.
Färbung: Sudanschwarz B-Methode nach BERENBAUM (Methode A).
Vergrößerung: 50 x

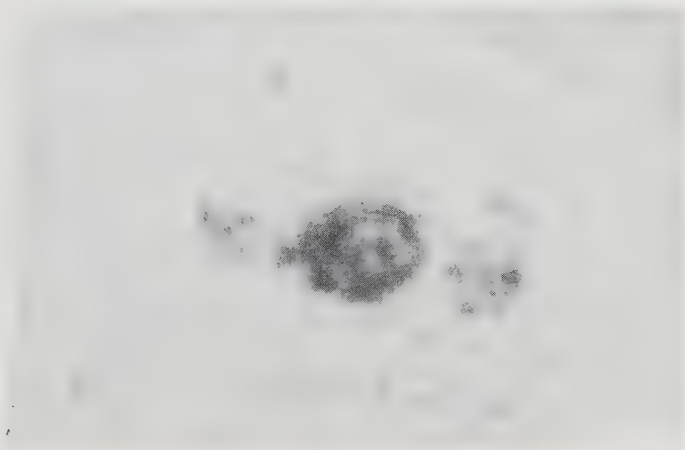


Abb. 5 : Zwischenwirbelscheibe, Mensch. Knorpelzelle mit Hof (im Original dunkelblau-grün, hier dunkelgrau) mit inhomogenen, herdförmigen Massen neben der Zelle aus dem Nucleus pulposus.
Färbung: Cholesterin-Nachweis-Methode nach SCHULTZ/WEBER.
Vergrößerung: 300 x

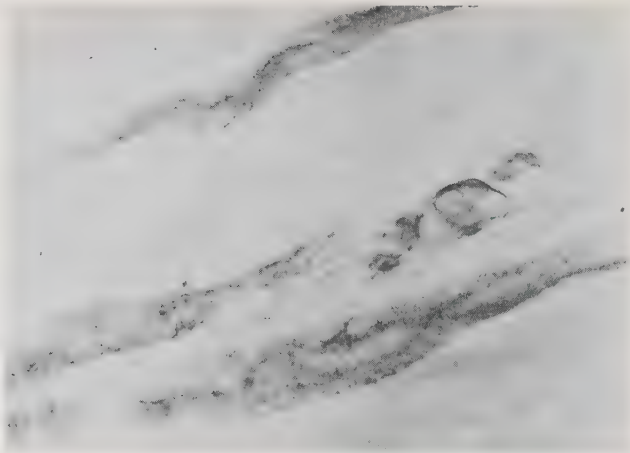


Abb. 6 : Zwischenwirbelscheibe, Anulus lamellosus, Mensch. Positive Darstellung der Fasern; rechts Mitte Querschnitte von Fasern. Homogene Zwischenräume durch Schrumpfung bedingt. Färbung: Cholesterin-Nachweis-Methode nach SCHULTZ/WEBER. Vergrößerung: 250 x

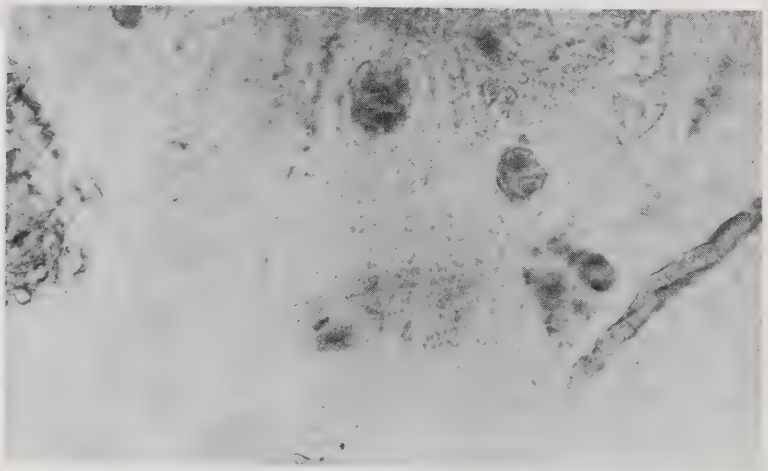


Abb. 7 : Zwischenwirbelscheibe, Nucleus pulposus, Mensch. Dunkelblau-grüne Anfärbung (hier grau-schwarz) eines Degenerationsherdes (links), mehrerer Knorpelzellen bzw. -nester und einer Faser. Färbung: Cholesterin-Nachweis-Methode nach SCHULTZ/WEBER. Vergrößerung: 200 x

Für das Cholesterin und seine Ester ist es charakteristisch, daß es sich histochemisch erst vom fünften Dezennium an intrazellulär, in den Höfen und Degenerationsherden nachweisen ließ, obwohl es biochemisch-analytisch schon in den ersten Dezennien nachweisbar ist. Der negative histochemische Ausfall der Reaktion wird mit einer geringen Empfindlichkeit der Methode bzw. einer besonderen Maskierungsart des Cholesterins zu erklären versucht.

4. Unsere Vorstellungen hinsichtlich des Lipid-Metabolismus sind dahingehend, daß wir die intrazellulären Fette und die Lipidhöfe als Ausdruck eines durch aktive Zellarbeit entstandenen Stoffwechselfunktionszustandes zur Bildung der Interzellulärsubstanz betrachten und ihnen somit eine orthologische Bedeutung beimessen, während die Lipide in den verschiedenen gestalteten Degenerationsherden ein biomorphotisch-degeneratives Stoffwechselprodukt darstellen.

VIII. LITERATUR

1. ABOOD, L.G., GERARD, R.W., BANKS, J., TSCHIRGI, R.D.:
Substrate and enzyme distribution in cells of the nervous system.
Amer.J.Physiol. 163, 723-733 (1952)
2. ACKERMANN, G.A.: A modification of the sudan black B technique for
the possible cytochemical demonstration of masked lipids.
Science 115, 629-631 (1952)
3. ADA, G.L.: Phospholipin Metabolism in Rabbit-liver Cytoplasm.
Biochem.J. 45, 422-428 (1949)
4. AMMON, R.: Physiologische Chemie der Gewebsfermente.
Dtsch.med.J. 3, 535-590 (1952)
5. AMPRINO, R.: Autoradiographic research on the S³⁵-sulphate metabolism
in cartilage and bone differentiation and growth.
Acta anat. (Basel) 24, 121-163 (1955)
6. ASBOE-HANSEN, G.: Connective Tissue in Health and Disease.
Copenhagen: Ejnar Mungsgaard Publisher 1954
7. ASCHOFF, L.: Über den Fettgehalt fötaler Gewebe.
Zbl. allg.Path.path.Anat. 3, 361-362 (1937)
8. BAGINSKI, S.: Contribution à l'histochemie du tissu cartilagineux.
Bull.Hist.Appl. 3, 225-233 (1929)
9. BAKER, J.R.: Chemical composition of mitochondria.
Nature(Lond.) 149, 611 (1942)
10. ders.: Cytochemical technique.
London 1945.
11. ders.: The histochemical recognition of lipine.
Quart.J.Microsc.Sci. 37, 441-470 (1946)
12. ders.: Further remarks on the histochemical recognition of lipine.
Quart.J.Microsc.Sci. 88, 463 (1947)
13. BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Stuttgart: G.Thieme, 4.Aufl. 1962

14. BARNUM, C.P., HUSEBY, R.A.: Some quantitative analyses of the particulate fractions from mouse liver cell cytoplasm.
Arch.Biochem. 19, 17-23 (1948)
15. BARROLIER, J. und SUCHOWSKY, G.: Betrachtungen über Lipoid-Farbstoffe und eine neue Methode einer Sudanfärbung.
Acta histochem. 5, 294-296 (1958)
16. BAUD, Ch.A.: Recherches sur la structure de la membrane nucléaire.
Acta anat. (Basel) 17, 113-174 (1953)
17. BAUMANN, J.: Beiträge zur Kenntnis der Altersveränderungen der Lendenwirbelsäule beim Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Bandscheiben und kleinen Wirbelgelenken.
Helvet. Chir. Acta 24, 9-38 (1957)
18. BENSLEY, R.R.:
Biol.Symposia 10, 323 (1943), zit. nach FREY-WYSSLING (1953)
19. BERENBAUM, M.C.: Staining of bound lipids.
Nature (Lond.) 174, 190 (1954)
20. ders.: The histochemistry of bound lipids.
Quart.J.Microsc.Sci. 99, 231-242 (1958)
21. BERG, N.O.: A histological study of masked lipids. Stainability, distribution, and functional variations.
Acta path.microbiol.Scand., Suppl. 90, 1-192 (1951)
22. BERMANN, R.: Die Färbung der Tuberkelbazillen mit Sudanschwarz BN.
Zschr.Hyg.Infekt.-Krh. 134, 287-299 (1952)
23. BERMES jr., E.W., McDONALD, H.J.: Fractionation and Characterization of the Lipide Stain Sudan Black B.
Arch.Biochem. 70, 49-57 (1957)
24. BLIX, G., FELIX, K., GRASSMANN, W., TRUPKE, J.: Eiweißstoffe.
In: Physiologische Chemie, ein Lehr- und Handbuch für Ärzte, Biologen und Chemiker, hrsg. von B.FLASCHENTRÄGER und E.LEHNARTZ, I.Bd., p.534-777, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951
25. BOEHMIG, R.: Über die kataplastischen Veränderungen im menschlichen Rippenknorpel.
Beitr.path.Anat. 81, 172-210 (1928/29)

26. BOEHMIG, R.: Die Degeneration der Wirbelbandscheibe und ihre Bedeutung für die Klinik.
Münch.med. Wschr. 1929, 1313
27. ders.: Die Blutgefäßversorgung der Wirbelbandscheibe, das Verhalten des intervertebralen Chordasegmentes und deren Bedeutung für die Bandscheibendegeneration.
Langenbeck's Arch.klin.Chir. 153, 374-424 (1930)
23. BOWES, J. H. and KENTEN, R. H.: The Amino-acid Composition and Titration Curve of Collagen.
Biochem.J. 43, 353-365 (1943)
29. BRADBURY, S. and CLAYTON, B.-P.: Occurence of "masked lipids" in mouse pancreas.
Nature (Lond.) 181, 1347 (1958)
30. BRADFORD, F. K. und SPURLING, R. G.: Die Bandscheibe.
Stuttgart: F. Enke 1950
31. BROCK, B., STOWELL, R. E., COUCH, K.: Staining of intramuscular lipids of mouse liver under different conditions of growth.
Lab. Invest. 1, 439-446 (1952)
32. BRUCKSCHEN, E.: Das Bindegewebe und seine Grundsubstanz.
Habilitationsschrift (M.schrift), 2 Bde., Frankfurt/M. 1958
33. BUDDECKE, E.: Biochemie des Bindegewebes.
Angewandte Chemie 72, 663-677 (1960)
34. BÜRGER, M.: Altern und Krankheit als Problem der Biomorphose.
Leipzig: VEB G. Thieme, 4. Aufl. 1960
35. BYWATERS, E. G. L.: Metabolism of cartilage.
Nature (Lond.) 133, 30-31 (1936)
36. CAIN, A. J.: The use of Nile Blue in the examination of lipoids.
Quart. J. Microsc. Sci. 33, 383-392 (1947)
37. ders.: The histochemistry of lipoids in animals.
Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. 25, 73 (1950)
33. ders.: A further note on Nile Blue.
Quart. J. Microsc. Sci. 39, 429 (1948)

39. CARVER, M.J., THOMAS, L.E.: An Electrophoretic Study of Lipoproteins from Cellular Nuclei.
Arch.biochem.biophys. 40, 342-345 (1952)
40. CASSELMAN, W.G.W.: Acetylated Sudan black B as a more specific histochemical reagent for lipids.
Quart.J.Microsc.Sci. 95, 321-322 (1954)
41. CHARGAFF, E.: Recent studies on cellular lipo-proteins.
Discussions Faraday Soc. No.6, 118-124 (1949)
42. CLAUDE, A.:
Science 91, 77 (1940), zit. nach BLIX, G. et al. 1951
43. ders.: Mitochondria, microsomes, nucleic acid of a leucemic cell.
J.of Exper.Med. 80, 19 (1944)
44. ders.: Studies on cells: morphology, chemical constitution and distribution of biochemical functions.
Harvey Lectures, Ser. 43, 121 (1948)
45. COMPERE, E.I.: Origin, anatomy, physiology, and pathology of the intervertebral disc.
Instruct.Lect.Amer.Acad.Orthop.Surg. 18, 15-20 (1961)
46. COVENTRY, M.B., GHORMLEY, R.K., KERNOHAN, J.W.: The Intervertebral Disc: its Microscopic Anatomy and Pathology.
I. Anatomy, development, and physiology.
J.Bone and Joint Surg. 27, 105-112 (1945)
47. dies.:
II. Changes in the intervertebral disc concomitant with age.
J.Bone and Joint Surg. 27, 233-247 (1945)
48. dies.:
III. Pathological changes in the intervertebral disc.
J.Bone and Joint Surg. 27, 460-474 (1945)
49. DADDI, L.: Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus.
Arch.ital.de biol. 26, 142-146 (1896)
50. DANIELLI, J.F.: Structural factors in cell permeability and secretion.
Symposia Soc.f.Exper.Biol. 1952 No.6, zit. nach HIRSCH, G.C.(1955)

51. DEBUCH, H.: Biochemie der Lipide.
Acta histochem. 2, 135-148 (1955/56)
52. DELBRÜCK, A.: Untersuchungen über Enzyme des Energiestoffwechsels im Bindegewebe.
Klin. Wschr. 40, 677-684 (1962)
53. DEMPSEY, E. W., WISLOCKI, G. B., SINGER, M.:
Anat. Rec. 96, 221 (1946), zit. nach BERENBAUM, M. C. (1953)
54. DIEZEL, P. B.: Die Stoffwechselstörungen der Sphingolipide.
(Monographien aus dem Gesamtgebiete der Neurologie und Psychiatrie, Heft 30, hrsg. von H. W. GRUHLE, H. SPATZ, P. VOGEL).
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957
55. ders. und NEIMANIS, G.: Über den Metachromasieeffekt von Sudanschwarz B.
Virchow's Arch. path. Anat. 330, 619-623 (1957)
56. DONOHUE, W. L.: Pathology of the intervertebral disc.
Amer. J. Med. Sciences 193, 419-436 (1939)
57. DOUNCE, A. L.:
J. biol. Chem. 147, 635 (1943), zit. nach BERENBAUM, M. C. (1953)
58. ECKLIN, U.: Die Altersveränderungen der Halswirbelsäule.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960
59. EGER, W.: Über Trockensubstanz und Fettgehalt menschlicher Lebern.
Virchow's Arch. path. Anat. 312, 270-281 (1944)
60. ELFTMAN, H.: Effects of fixation in lipid histochemistry. Proc. of the Eighth Annual Meeting of the histochemical Society, Baltimore, April 1957; Symposium: Problems of fixation in histochemistry, p. 317-321 (1957)
61. EMMRICH, R.: Chronische Krankheiten des Bindegewebes.
Leipzig: VEB G. Thieme 1959
62. ENGSTRÖM, A. and FINEAN, J. B.: Biological Ultrastructure.
New York (N. Y.): Academic Press Inc. Publishers 1958
63. EXNER, G.: Die Halswirbelsäule.
Stuttgart: G. Thieme 1954
64. FASSKE, E.: Zur Histochemie des Bandscheibengewebes.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 98, 211 (1953)

65. FASSKE, E.: Der Strukturwandel der menschlichen Zwischenwirbelscheibe.
Zschr. mikrosk. -anat. Forschg. 66, 1-18 (1959)
66. FICK, R.: Handbuch der Anatomie und Mechanik der Gelenke.
Bd.2, Jena 1911.
67. FITTON-JACKSON, S.: Structural problems associated with the formation of collagen fibrils in vivo.
In: Connective Tissue, ed. by M.KEECH and J.F.DELAFRESNAYE,
p.77-85. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1957
68. FOLLIS, R.H.jr.: Some histochemical observations on normal and diseased cartilage and bone.
In: Metabolic Interrelations, Transactions of the first Conference,
p.27-30, ed. by E.C.REIFENSTEIN.
New York (N.Y.): Josiah Macy Jr. Foundation 1949
69. ders., BERTHRONG, M.: Histochemical studies on cartilage and bone.
Amer.J.Path. 24, 685 (1948)
70. dies.: Histochemical studies on cartilage and bone. I. The normal pattern.
Bull.Johns Hopk.Hosp. 85, 281- 297 (1949)
71. dies.: II. Ascorbic acid deficiency.
Bull.Johns Hopk.Hosp. 89, 9-20 (1951)
72. FREDRICSSON, B.: Staining of freeze-dried tissue with Sudan black B after embedding in polyethylene glycol.
Acta Morphol.Neerl.-Scand. 1, 337-383 (1958)
73. ders., LAURENT, T.C., LÜNIN, G.B.: Decomposition of Sudan black B causing an artefact in the staining of lipids.
Stain Technol. 33, 155-158 (1958)
74. FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Protoplasma-Monographie 15.
Berlin: Gebr. Bornträger 1938
75. ders.: Submicroscopic Morphology of Protoplasm.
Amsterdam-Houston-London-New York: Elsevier Publishing Co.
1953

76. FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Cytoplasmas.
In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd.II/1, p.69-91.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955
77. GEDIGK, P.: Zur Histochemie des Zentralapparates der Zelle.
Virchow's Arch.path.Anat. 325, 366-378 (1954)
78. ders.: Histochemische Methoden. In: H.M.RAUHEN (Hrsg.), Biochemisches Taschenbuch.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956
79. GIBIAN, H.: Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen.
Wien: Franz Deuticke 1959
80. GORDON, E.E.: Natural history of the intervertebral disc.
Arch.Phys.Med. 42, 750-763 (1961)
81. GOVAN, A.D.T.: Fat-staining by Sudan dyes suspended in watery media.
J.Path.Bact. 56, 262-264 (1944)
82. GRAFFI, A. und JUNKMANN, K.: Beitrag zum Aufbau normaler und maligner Zellen.
Klin.Wschr. 24, 78-81 (1946)
83. GRAUMANN, W.: Die histochemische Perjodatreaktion der Reticulin- und Kollagenfasern.
Acta histochem. 1, 116-125 (1954)
84. GREEN, D.E.: Enzymatic organization of the Mitochondrion.
In: Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle, p.96-93.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963
85. GUENTZ, E.: Gelbe und braune Verfärbung der Zwischenwirbelscheibe.
Dtsch.Z.Chir. 254, 633-643 (1941)
86. GUPTA, B.L.: A Further Note on the "Unmasking" of Lipids in the Cell.
Experientia (Basel) 15, 223 (1959)
87. GURR, E.: Methods of analytical histology and histochemistry, p.297.
London: L.Hill Ltd. 1958, zit. nach WUNDERLY, Ch. 1959, p.61.
88. HANSEN, H.J.: Comparative views on the pathology of disc degeneration in animals.
Lab.Invest. 8, 1242-1265 (1959)

89. HAPPEY, F., HORTON, W. G., MACRAE, T. D., NAYLOR, A.: The human intervertebral disc.
Nature (Lond.) 175, 1032-1033 (1955)
90. HARMS, H.: Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie.
Kamp-Lintfort: Staufen-Verlag, Teil II, 1. und 2. Lieferung 1957,
Teil I, 1. Lieferung 1959
91. HARTMANN, F. und EHBRECHT, J.: Experimentelle Beiträge zur Struktur und Funktion gesunden und kranken Bindegewebes. 2. Mitteilung: Die Elastizität der Zwischenwirbelscheibe unter dem Einfluß von Cortison und Hydrocortison.
Zschr. Rheumaforsch. 13, 349-356 (1954)
92. ders. und FLECK, U. Vergleichende chemische und histologische Analyse der Leberverfettung.
Klin. Wschr. 30, 652-654 (1952)
93. HAUSS, H. und LOSSE, H. (Hrsg.): Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes.
Stuttgart: G. Thieme 1960
94. HEINE, J.: Über die Arthritis deformans.
Virchow's Arch. path. Anat. 260, 521-663 (1926)
95. HERINGA, G. C.: Chemische und färberische Fettdarstellung in der Zelle.
Arch. exper. Zellforsch. 22, 632-636 (1939)
96. HEVELKE, G. und HEVELKE, H.: Die chemischen Altersveränderungen der menschlichen Zwischenwirbelscheiben.
Z. Alternsforsch. 14, 271-282 (1960)
97. HILLARP, N. A., OLIVECRONA, H.:
Acta anat. (Basel) 2, 119 (1946), zit. nach BERENBAUM, M. C. (1958)
98. HIRSCH, G. C.: Allgemeine Stoffwechsellmorphologie des Cytoplasmas.
In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/1, p. 92-212.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955
99. HIRSCH, Ch., SCHAJOWICZ, F.: Studies on structural changes in the lumbar anulus fibrosus.
Acta orthop. Scand. 22, 184-231 (1953)

100. HIRSCH, Ch., SCHAJOWICZ, F.; NACHEMSON, A.: New observations on the mechanical behavior of lumbar discs.
Acta orthop. Scand. 23, 254 (1954)
101. HOLCZINGER, L. and BALINT, Z.: The staining properties of "masked" lipids.
Acta histochem. 11, 234-233 (1961)
102. dies.: Experimental data to the theory of fat staining.
Histochemie 2, 239-292 (1962)
103. HOLTGRETER, J.: Experiments on the formed inclusions of the amphibian egg. I. The effect of pH and electrolytes on yolk and lipochondria.
J. of Exper. Zool. 101, 355; 102, 51 (1946)
104. ders.: III. Observations on microsomes, vacuoles and on the process of yolk resorption.
J. of Exper. Zool. 103, 81 (1946)
105. IDELMANN, S. M.: Démasquage des lipides du chromosome géant des glandes salivaires de Chironome par digestion enzymatique des protéins.
C.R. Acad. Sci. (Paris), V. 246, 3282 (1958)
106. IRVING, J. T.: A histological stain for newly calcified tissues.
Nature (Lond.) 181, 704-705 (1958)
107. JOEL, W., MASTERS, Y. F., SHETLAR, M. R.: Comparison of histochemical and biochemical methods for the polysaccharides of cartilage.
J. Histochem. Cytochem. 4, 476-478 (1956)
103. JUNGHANNS, H.: Die Pathologie der Wirbelsäule. In: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. IX/4, p. 216-429. Berlin: J. Springer 1939
109. KANTOR, T. G., SCHUBERT, M.: The difference in permeability of cartilage to cationic and anionic dyes.
J. Histochem. Cytochem. 5, 28-32 (1957)
110. KAO, K.-Y. T., SCHWARTZ, J. H., TREADWELL, C. R., MCGAVACK, Th. H.: Connective Tissue. II. Effect of age and sex upon lipid composition of tissues of rat.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 103, 666-669 (1960)

111. KAPLAN, D., MEYER, K.: Aging of human cartilage.
Nature (Lond.) 183, 1267 (1959)
112. KENT, S.P.: Observations on the specificity of SCHULTZ histochemical test for cholesterol in tissues.
Arch.Path. 54, 439-442 (1952)
113. KLÜVER, H. and BARRERA, E.: A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system.
J. Neuropath. exp. Neurol. 12, 400-403 (1953)
114. dies.:
J. Psychol. 37, 199 (1954), zit. nach PEARSE, A.G.E. (1955)
115. KNESE, K.-H., KNOOP, A.-M.: Über den Ort der Bildung des Mucopolysaccharid-Proteinkomplexes im Knorpelgewebe.
Z. Zellforsch. 53, 201-258 (1961)
116. KOBURG, E.: Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweißstoffwechsel der Zellen des Knorpels und Knochens.
Beitr. path. Anat. 124, 108-135 (1961)
117. KRUSZYNSKI, J.: Recherches sur le cartilage. I. Différentiation, morphologie et histochimie du cartilage dans les cultures de tissus.
Trav. Soc. D. Sci. et Lett., Wilno 10, 1-43 (1936)
118. KUTSCHERA-AICHBERGER, H.: Beitrag zur Morphologie der Lipide.
Virchow's Arch. path. Anat. 256, 569-594 (1925)
119. KUTT, H., LOOCKWOOD, D., McDOWELL, F.: The lipid and protein staining properties of sudan II, III, and IV and their components.
Stain Technol. 34, 197-202 (1959)
120. dies.: Decomposition of sudan black B by ultraviolet light and gases; its lipid and protein staining properties.
Stain Technol. 34, 203-208 (1959)
121. LANSING, A.J.: Chemical morphology of elastic fibers. In: Connective Tissue (Transactions of the Second Conference, May 24/25, 1951, New York, N.Y.), ed. by Ch. RAGAN, p. 45-85. New York: Josiah Macy, Jr. Foundation 1951
122. LEACH, E.H.: A new stain for mucin.
J. Path. and Bact. 47, 637-639 (1938)

123. LEACH, A. A.: The Lipids of Ox Compact Bone.
Biochem.J. 69, 429-432 (1953)
124. LENNERT, K.: Die Histochemie der Fette und Lipide.
Z. wiss. Mikr. 62, 363-393 (1954)
125. LENNERT und WEITZEL, G.: Zur Spezifität der histologischen Fettfärbemethoden.
Z. wiss. Mikr. 62, 20-29 (1952)
126. LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie.
Stuttgart: G. Thieme 1959
127. ders.: Allgemeine Pathologie des Bindegewebes (unter Einschluß der sog. Kollagenosen).
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 65, 9-27 (1959)
123. LEULIER, A. et REVOL, L.: Sur la répartition du cholestérol et de ses éthers dans les capsules surrénales.
C.R. Acad. Sci. (Paris) 190, 657-659 (1930)
129. LEUTERT, G.: Die Biomorphose der Gewebe aus der Sicht der normalen Anatomie.
Z. Altersforschung 14, 1-17 (1960)
130. LEWIS, P. R. and LOBBAN, M. C.: The chemical specificity of the SCHULTZ test for steroids.
J. Histochem. Cytochem. 9, 2-10 (1960)
131. v. LEYDIG, F. (1854), zit. nach SCHAFFER, J. (1930)
132. LILLIE, R. D.: Connective Tissue Staining. In: Connective Tissue (Transactions of the Third Conference, Febr. 14/15, 1952, New York), ed. by Ch. RAGAN, p. 11-37. New York: Josiah Macy, Jr. Foundation 1952
133. LILLIE, R. D. and BURTNER, H. J.: Stable Sudanophilia of human neutrophil leucocytes in relation to peroxidase and oxidase.
J. Histochem. Cytochem. 1, 3-26 (1953)
134. LINDAHL, O.: Über den Wassergehalt des Knorpels.
Acta orthop. Scand. 17, 134-136 (1943)
135. LINDNER, J.: Histochemische Untersuchungen an nicht krankhaft veränderten Gelenkknorpeln.
Zbl. allg. Path. path. Anat. 93, 33-39 (1955)

136. LIPP, W.: Histochemische Methoden. Lieferg. XVII u. XVIII.
München: Oldenbourg 1959, 1960
137. LISON, L.: Sur des nouveaux colorants histologiques spécifiques des lipids.
C.R. Soc. Biol. (Paris) 115, 202-205 (1934)
138. ders.: Histochimie et cytochimie animales.
Paris: Gauthier-Villars Ed. 1953
139. LITTLE, K., WINDRUM, G.M.: A lipid component of reticulin.
Nature (Lond.) 174, 789 (1954)
140. LOOMEIJER, F.J.: The lipid compound of elastin.
J. Atheroscler. Rec. 1, 62-66 (1961)
141. LOVERN, J.A.: The mode of occurrence of fatty acid derivatives in living tissues.
London: H.M.S.O. 1952
142. LUSCHKA, H.: Die Altersveränderungen des Zwischenwirbelknorpels.
Virchow's Arch. path. Anat. 9, 309 (1856)
143. ders.: Die Halbgelenke des menschlichen Körpers.
Berlin: Reimer 1858
144. MALINSKY, J.: Histochemical demonstration of carbohydrates in intervertebral discs of human fetuses age 3-4 months.
Acta histochem. 2, 153-164 (1955/56)
145. ders.: Histochemical Demonstration of Carbohydrates in Human Intervertebral Discs During Postnatal Development.
Acta histochem. 5, 120-128 (1958)
146. ders.: Histochemistry of Carbohydrates and Lipids in Intervertebral Discs During Phylogenetic Development.
Acta histochem. 7, 107-124 (1959)
147. McCOLL, J.D., ROSSITER, R.J.: Lipids of squid nerve.
Nature (Lond.) 166, 185-186 (1950)
148. MEIER, W.: Untersuchungen zur Theorie der Fettfärbung.
Z. wiss. Mikr. 64, 193-208 (1959)

149. MEIER, W.: Zur Technik der Darstellung strukturgebundener Lipide auf Elektropherogrammen.
Verh. dtsch. Path. Ges. 42, 421-424 (1959)
150. MISSMAHL, H. P.: Polarisationsoptischer Nachweis von gerichtet in das Sarkoplasma des Herzens eingelagerten Lipoiden.
Virchow's Arch. path. Anat. 323, 93-101 (1956)
151. ders.: Doppelbrechung der reticulären Faser und sich hieraus ergebender Nachweis von gerichtet eingelagerten Lipoiden in die reticuläre Faser.
Z. Zellforsch. 45, 612-619 (1957)
152. ders.: Experimentelle und klinische Beobachtungen über den wechselnden Lipoidgehalt reticulärer Fasern in Leber, Milz und Niere.
Klin. Wschr. 36, 29-34 (1953) a
153. ders.: Nachweis gerichtet eingelagerter Lipide in der Retikulinfaser und neue Untersuchungen über das Verhalten der retikulären Fasern im Krankheitsgeschehen, insbesondere der Amyloidose.
Habilitationsschrift, Tübingen 1953 b
154. MONTAGNA, W.: Glycogen and lipids in human cartilage with some cytochemical observations of the cartilage of the dog, cat, and rabbit.
Anat. Rec. 103, 77-92 (1949)
155. NAGY, J., SAVAY, G., CSILLIK, B.: Über die Korrelation zwischen Lipoidgehalt der Knorpelzellen und Ossifikation.
Acta morphol. Acad. Sci. hung. 3, 433-437 (1953)
156. NAYLOR, A.: Changes in the human intervertebral disc with age.
Proc. Roy. Soc. Med. (Lond.) 51 (2), 573-576 (1953)
157. NIESSING, K. und ROLLHÄUSER, H.: Über den submikroskopischen Bau des Grundhäutchens der Hirnkapillaren.
Z. Zellforsch. 39, 431-446 (1954)
158. OLIVECRONA, H., HILLARP, N. A.:
Acta anat. 3, 281 (1949), zit. nach BERENBAUM, M. C. (1953)
159. PARVIS, V. P., IURATO, S.: Studio istochimico della istogenesi del disco intervertebrale.
Riv. istochim. 1, 333-414 (1955)

160. PEARSE, A.G.E.: Copper phthalocyanins as phospholipid stains.
J.Path.Bact. 70, 554-557 (1955)
161. ders.: Histochemistry.
Boston: Little, Brown and Comp. 1960
162. PIOCH, W.: Über die Darstellung saurer Mukopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau.
Virchow's Arch.path.Anat. 330, 337-346 (1957)
163. PONDER, E.: Lipid and protein components in the surface ultrastructure of the erythrocyte.
Discussions Faraday Soc. No.6, 152-160 (1949)
164. PRADER, A.: Frühembryonale Entwicklung der menschlichen Zwischenwirbelscheibe.
Acta anat. (Basel), sep.vol., 3, 68-83 (1947)
165. ders.: Entwicklung der Zwischenwirbelscheibe beim menschlichen Keimling.
Acta anat. (Basel), sep.vol., 3, 115-152 (1947)
166. PÜSCHEL, J.: Der Wassergehalt normaler und degenerierter Zwischenwirbelscheiben.
Beitr.path.Anat. 84, 123-130 (1930)
167. PUTSCHAR, W.G.J.: Über Fett im Knorpel unter normalen und pathologischen Verhältnissen.
Beitr.path.Anat. 87, 525-539 (1931)
168. ders.: General pathology of the musculo-skeletal system. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, III/2, p.363-438. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960
169. REINER, C.B.: Some studies on the SCHULTZ histochemical test for cholesterol.
J.Nat.Canc.Inst. (Bethesda) 13, 217 (1952)
170. ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik.
München: Leibnitz 1948
171. RÖTTGER, W.: Die Bedeutung der Ernährungsstörung, insbesondere des O₂-Mangels für die Pathogenese der Gefäßwandveränderungen mit besonderer Berücksichtigung der "Endarteriitis obliterans" und der Arteriosklerose. - Beitr.path.Anat. 110, 46-102 (1949)

172. SACERDOTTI, C.: Über das Knorpelfett.
Virchow's Arch.path. Anat. 159, 152-173 (1900)
173. SCHAFFER, J.: Die Stützgewebe. In: W.v.MÖLLENDORF, Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd.II/2, p.1-390.
Berlin: Springer 1930
174. SCHALLOCK, G.: Untersuchungen zur Pathogenese von Aufbrauchveränderungen an den knorpeligen Anteilen des Kniegelenkes (Veröffentlichungen aus der Konstitutions- und Wehrpathologie, Heft 49).
Jena: G.Fischer 1942
175. SCHELLENBERG, R.: Beitrag zur Gefäßversorgung der Bandscheibe.
Arch.orthop.Unfallchir. 47, 573-582 (1955)
176. SCHMIEDEBERG, O.: Über die chemische Zusammensetzung des Knorpels.
Arch.exper.Path.Pharm. 23, 355 (1900)
177. SCHMIDT, W.J.: Doppelbrechung, Dichroismus und Feinbau der Außenglieder der Sehzellen vom Frosch.
Z.Zellforsch. 22, 435 (1935) a
178. ders.: Die Lamellardoppelbrechung des Außengliedes der Sehzellen vom Frosch, nachgewiesen an Schnitten.
Zool.Anz. 109, 245 (1935) b
179. ders.: Doppelbrechung und Feinbau der Markscheide der Nervenfasern.
Z.Zellforsch. 23, 657 (1936)
180. ders.: Über die Formdoppelbrechung der osmierten Markscheide des Nerven.
Z.wiss.Mikr. 54, 159 (1937)
181. ders.: Über Doppelbrechung und Feinbau der Kernmembran.
Protoplasma (Berlin) 32, 193 (1939)
182. SCHMITT, F.O., BEAR, R.S., PONDER, E.: Optical properties of the red cell membran.
J.Cellul.Comp.Physiol. 9, 39 (1936)
183. dies.: The red cell envelope considered as a Wiener mixed body.
J.Cellul.Comp.Physiol. 11, 309 (1939)

184. SCHMORL, G. und JUNGHANN, H.: Die gesunde und die kranke Wirbelsäule.
Stuttgart: G. Thieme, 4. Aufl. 1957
185. SCHÖN, H., KRAUSE, U., ELSTER, K.: Das Fettsäuremuster der menschlichen Leber im Zustand der Verfettung.
Klin. Wschr. 41, 743-749 (1963)
186. SCHOTT, H.J.: Zur Histochemie der Fette im hyalinen Knorpel (Jahrestag d. nord- u. westdeutschen Pathologen v. 30.9. - 2.10.1960 in Kiel).
Zbl. allg. Path. path. Anat. 102, 108-109 (1961)
187. ders.: Vorkommen und Verteilung gebundener Lipide in der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels (57. Vrslg. der Anat. Ges. in Hamburg v. 24. - 26.5.1961).
Verh. d. Anat. Ges., Ergänzungsheft z. 111. Bd. d. Anat. Anz., 363-371 (1962)
188. ders.: Histochemischer Nachweis freier und gebundener Fette im hyalinen Knorpel und deren Bedeutung für die Bildung und Leistung der Knorpelgrundsubstanz (Med. Ges. Marburg/Lahn, Sitzg. v. 15.1.1962).
Klin. Wschr. 40, 709 (1962) a
189. ders.: Besitzt das Sudanswarz B die Eigenschaft der Metachromasie? Naturwissenschaften 49, 449 (1962) b
190. ders.: Beitrag zur Anfärbung gebundener (maskierter) Lip(o)ide mit Sudanswarz B.
Histochemie 3, 138-149 (1962) c
191. ders.: Zur Frage der Metachromasie und Allochromasie des Sudanswarz B (VIII. Symposium der Arbeitsgemeinschaft für Histochemie in Wien v. 4. - 6.10.1962). d
192. ders.: Zur Frage der histochemischen Fettspezifität des Sudanswarz B und zur Methodik der Auftrennung seiner Fraktionen.
Histochemie (1964) im Druck
193. SCHOTT, H.J. und SCHÖNER, W.: Zur Frage der Abhängigkeit der Fettfärbung mit Sudanswarz B vom pH des Lösungsmittels. Frankf. Zschr. Path. 73, 328-337 (1964)
194. SCHULTZ, A.: Eine Methode des mikrochemischen Cholesterinnachweises am Gewebsschnitt.
Zbl. Path. path. Anat. 35, 314-317 (1924/25)

195. SCHULTZ, A.: Über Cholesterinester-Verfettung.
Verh. dtsch. path. Ges. 20, 120-123 (1925)
196. SCHULTZ, A. und LÖHR, G.: Zur Frage der Spezifität der mikrochemischen Cholesterinreaktion mit Eisessig-Schwefelsäure.
Zbl. Path. path. Anat. 36, 529-533 (1925)
197. SERRA, J. A.: Cytochemical demonstration of masked lipids.
Science 123, 28-29 (1958)
198. SHETLAR, M. R., MASTERS, Y. F.: Effect of Age on Polysaccharide Composition of Cartilage.
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 90, 31-33 (1955)
199. SINAPIUS, D.: Zur Darstellung maskierter Fette der Leber.
Verh. dtsch. Ges. Path. 1961, 297-299 (1961)
200. SJÖSTRAND, F. S.: Electron-microscopic demonstration of a membrane structure isolated from nerve tissue.
Nature (Lond.) 165, 432-433 (1950)
201. ders.: The lamellated structure of the nerve myelin sheath as revealed by high resolution electron microscopy.
Experientia (Basel) 9, 63-69 (1953)
202. SMITH, J. L.:
J. Path. Bact. 12, 1 (1903), zit. nach HARMS, H. 1957, p. 184
203. SPIRO, M. J., McKIBBIN, J. M.: The lipids of rat liver cell fractions.
J. biol. Chem. 219, 643-651 (1956)
204. STONEBURG, C. A.:
J. biol. Chem. 129, 189 (1939), zit. nach BERENBAUM, M. C. (1953)
205. SWANSON, M. A., ARTOM, C.: The lipid composition of the large granules (mitochondria) from rat liver.
J. biol. Chem. 187, 231-237 (1950)
206. TÖNDURY, G.: Entwicklungsgeschichte und Fehlbildungen der Wirbelsäule.
Stuttgart: Hippokrates 1953
207. TOLDT, Lehrbuch der Gewebelehre 1977, zit. nach SACERDOTTI, C. (1900)

203. WALLRAFF, J.: Eine vergleichende Gewebs- und methodenkritische Untersuchung der Eiweiß-, Kohlehydrat- und Fettstoffkomponenten komplexer Organbestandteile.
Histochemie 1, 343-390 (1959)
209. WANG, T.-Y., CARVER, M.J., RAMSEY, R.H., FUNCKES, A.J., THOMAS, L.E.: Lipoproteins of cellular nuclei.
Fed.Proc. 11, 306 (1952)
210. WASSERMANN, F.: Feinstruktur des Bindegewebes.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 65, 852-862 (1959)
211. WEBER, A.F., PHILIPPS, M.G., BELL, J.T.Jr.: An improved method for the Schultz cholesterol test.
J.Histochem.Cytochem. 4, 308-309 (1956)
212. WILLIAMS, H.H. et al.:
J.biol.Chem. 160, 227 (1945), zit. nach BERENBAUM, M.C. (1958)
213. WINDRUM, G.M., KENT, P.W., EASTOE, J.E.: The constitution of human renal reticulín.
Brit.J.Exper.Path. 36, 49-59 (1955)
214. WINKLER, K.C., BUGENBERG de JONG, H.G.:
Arch.néerl.Physiol. 25, 431, 467 (1940/41), zit. nach FREY-WYSS-
LING, A. 1953
215. WLASSICS, T.: Über den Zusammenhang der Änderung des Fettgewebes der Zelle des hyalinen Knorpels mit dem Ernährungszustand des Individuums.
Z.mikr.-anat.Forsch. 22, 220-226 (1930)
216. WUNDERLY, Ch.: Die Papierelektrophorese.
Aarau u.Frankfurt/M.: H.R.Sauerländer & Co., 2. Aufl. 1959
217. ZACCARINI, G.: Das Fettgewebe in den Rippenknorpeln.
Zbl.Path.path.Anat. 21, 577-582 (1910)
218. ZAHN, W.: Über Pigmentinfiltration des Knorpels.
Virchow's Arch.path.Anat. 72, 110-119 (1878)
219. ZEÏGER, K.: Physikochemische Grundlagen der histologischen Methodik.
Dresden u.Leipzig: Th.Steinkopff 1938

220. ZELANDER, T.: Ultrastructure of articular cartilage.
Z. Zellforsch. 7, 720-738 (1959)
221. ZÖLLNER, N.: Stoffwechsel der Neutralfette und Fettsäuren, Lipid-
stoffwechsel. In: THANNHAUSERS Lehrbuch des Stoffwechsels und der
Stoffwechselkrankheiten, p. 581-646.
Stuttgart: G. Thieme, 2. Aufl. 1957
222. Ders.: Zur Struktur der Lipoproteine.
Dtsch. Med. Wschr. 33, 443-452 (1953)

Herrn Professor Dr.med. H. Bre dt danke ich für die Überlassung des Themas der Dissertation und für seine Unterstützung bei der Durchführung der Versuche in den Laboratorien des Pathologischen Institutes in Mainz.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr.med. H. J. Schott, der mich bei der Versuchsanordnung und der Beurteilung histochemischer Färbe-Methoden großzügig unterstützte.



LEBENS LAUF

Am 5. Dezember 1935 wurde ich, Peter Albers, als Sohn des Privatdozenten für Organische Chemie Dr. Henry Albers und seiner Ehefrau Erna, geb. Möller, zu Hamburg geboren.

Die Volksschule besuchte ich 1942 - 1944 in Danzig und 1945 in Reinbek bei Hamburg, anschließend von 1946 - 1951 die Gelehrtenschule des Johanneums in Hamburg und 1951 - 1954 die Diltheyschule (humanistisches Gymnasium) in Wiesbaden, wo ich am 17. März 1954 die Reifeprüfung bestand.

Zu Beginn des Sommersemesters 1954 schrieb ich mich an der medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen ein und unterzog mich hier nach sechs vorklinischen Semestern im Februar 1957 der ärztlichen Vorprüfung. Die klinischen Vorlesungen hörte ich an den Universitäten in Mainz, Wien, Grenoble, Hamburg und Frankfurt/M. Die ärztliche Prüfung legte ich an der Johann Wolfgang von Goethe-Universität im Jahre 1960 in Frankfurt/M. ab.

Von September 1960 bis Ende April 1961 war ich Medizinal-Praktikant an der Medizinischen Poliklinik, vom 1. Mai bis Ende September 1961 an der Frauenklinik der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz; von Oktober 1961 bis Ende März 1962 arbeitete ich als Medizinal-Praktikant in der Chirurgischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses Heidberg in Hamburg, seit April 1962 bin ich im Pathologischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz tätig.

